ISSN 0181-1584

CRYPTOGAMIE

MYCOLOGIE

TOME 17 Fascicule 1 1996



PUBLICATION TRIMESTRIELLE

Mars 1996

CRYPTOGAMIE

Mycologie

ANCIENNE REVUE DE MYCOLOGIE
Fondée par R. Heim en 1936

Directeur de la publication : Dr. Hélène Bischler-Causse
Rédaction : Dr. Bruno Dennetière
Editeur : A.D.A.C. — 12 rue Buffon F-75005 Paris

MANUSCRITS

Les manuscrits doivent être adressés directement à un membre du Bureau de Rédaction, choisi pour sa spécialité. Le Bureau peut demander l'avis d'un lecteur même s'il n'appartient pas au Comité de Lecture. Bien qu'étant une revue de langue française, les articles rédigés en anglais, allemand, italien et espagnol sont acceptés. Les disquettes de micro-ordinateurs (IBM, IBM compatible et MacIntosh) sont vivement souhaitées. Les recommandations aux auteurs sont publiées dans le fascicule 1 de chaque tome. Les auteurs recevront 25 tirés-à-part gratuits ; les exemplaires supplémentaires seront à leur charge.

TARIFS DES ABONNEMENTS Tome 17, 1996

CRYPTOGAMIE comprend trois sections : Algologie, Bryologie-Lichénologie, Mycologie.

Pour une section :	France : (350 F ht) 357,35 F ttc	Étranger : 380,00 F
Pour les 3 sections :	France : (950 F ht) 970,00 F ttc	Étranger : 1050,00 F

Paiement par chèque bancaire ou postal à l'ordre de

A.D.A.C. — CRYPTOGAMIE (CCP La Source 34 764 05 S)

adressé à : A.D.A.C. 12 rue Buffon, F-75005 Paris.

CRYPTOGAMIE, Mycologie est indexé par *Biological Abstracts, Current Contents, Geo Abstracts,* GEOBASE, Publications bibliographiques du CNRS (Pascal).

Illustration de couverture : *Clavaria vermicularis* Scop., dessin de R. Heim.

CRYPTOGAMIE

MYCOLOGIE

TOME 17 FASCICULE 1 1996

CONTENTS





VOSGES

Moselle : *entre Goetzebruck et Wingen (Sud de Bitche) (Schwarz 1992)
Hte Saône : Ternuay (10 km au Nord de Lure) (R. Grandemange, ONF, 1993)

ALPES

Savoie : Cevins à Rognaix 600 m (Meyer 1991).Lanslebourg (Haute Maurienne) (G. D. 9/1992)
Haute Savoie : le Semnoz près d'Annecy, 1100 m (G. D. 10/94). Vacheresse, vers Fontaine, 1000 m (G. D. 10/94).
Isère : Lans en Vercors, route du « stade de neige » 1200 m. (G. D. 10/94)
Hautes Alpes : Foucatou près de Suines le Lac, 1400 m. (Bossuet, CRPF, 1994). Freyssinière (Joffres, DDAF, 1994)

MASSIF CENTRAL

Puy de Dôme : Forêt d'Orcival à Gravenoire (Massif des Monts Dore) (B. Boutte, DSF, 1993).
Aveyron : entre Baraqueville et Taillac (Courtin, 9/1994)
Loire : Mont Pilat entrePélussin et le col de l'Oeillon (G.D. 9/1995).
Tarn : entre Les Cammazes et Saissac (Montagne Noire) (G.D., 11/94)

PYRENEES

Pyrénées Orientales : Puyvalador, route de Quérigut, 1300 m (G.D. 9/1995)
Haute Garonne : Juzet de Luchon (B. Poureau, ONF, 1993). Luchon, forêt de Jouèou, 1000 m (G. D., 9/1994) ; route de l'Hospice de France, 1200 m (G.D. 8/ 1995).
Ariège : forêt de Bragues près de Quérigut (G.D. 9/1995) ; Sentenac de Serou au Col de Jouets ; Esplas de Serou à la Tour Laffon ; Burre (Ouest de Foix) (F. Joffres, DDAF, 1993). Balagué (Ouest de Saint Girons) (J. Pitaud, ONF, 1993). Monts d'Olmes (Courtin 9/1994).
Htes Pyrénées : Fabian, sapinière de Couplan, 1400 m (G.D. 9/95).

ESPAGNE

Huesca : vallée de Venasque, en amont des Bains, 1200 m (G. D. 8/1994).
Valle de Aran : Gesa, forêt du Mont Rumies (G. D. 1993). Valarties et vallée d'Aiguamogt ; Viella au dessus de l'entrée nord du tunnel (G. D. 8-9/1994).
Lerida : Valferrera au pla de Boet ; Capdella au barrage de Sallent ; Pallars Sobira à Mongarri (G.D. 8/1994) et confluent de la Pallaresa et du torrent de Marimanya (G.D. 8/1995).

* échantillons non examinés

Table 1 : **Stations connues de *Microsphaera vanbruntiana* var. *sambuci-racemosae***

En 1993 j'étais très surpris de retrouver ce parasite dans les Pyrénées, au Val d'Aran, c'est à dire en Espagne mais toujours sur le versant nord de la chaîne. Cette nouvelle station montrait que le parasite était en pleine expansion et venait d'atteindre à peu de choses près les limites sud de son aire potentielle. Il me paraissait intéressant de réaliser de nouvelles prospections afin de connaître l'extension exacte du parasite, et pour cela j'ai fait appel aux correspondants du réseau d'observation du « Département santé des forêts », leur aide m'a été très précieuse. C'est ainsi que dès l'automne 1993, le champignon était repéré dans les Vosges, le Massif du Mont Dore, les Pyrénées ariégeoises et garonnaises (tableau 1). Cependant, il semblait que l'invasion était encore sporadique, en effet des observations dans la région de Luchon montraient que des localités proches d'une station parasitée étaient encore indemnes. Ce n'est plus le cas, depuis 1994, le parasite y est présent, et au cours de ces deux année, de nombreuses autres stations sont venues s'ajouter à la liste déjà connue, montrant que l'on peut désormais considérer ce *Microsphaera* comme une espèce bien implantée dans la flore française et largement répandue sur l'aire de son hôte (tableau 1 et carte 1). Il serait intéressant de le rechercher dans le Nord-Ouest, sa présence y est fort possible, mais les stations de son hôte n'y ont pas encore été prospectées.

D'autre part, alors qu'en 1993 je l'avais recherché en vain sur le versant sud des Pyrénées, j'ai pu, dès l'année suivante constater sa présence en plusieurs localités qui marquent la limite sud de la répartition de *Sambucus racemosa*. Mais avec encore quelques exceptions, car dans les Pyrénées Orientales, il semble totalement absent de Cerdagne

Nous sommes donc devant le cas d'un champignon dont l'aire potentielle, c'est à dire celle de son hôte, s'étend sur une grande partie de la zone tempérée froide de l'Eurasie, depuis le Japon jusqu'à l'Europe occidentale, en effet *Sambucus racemosa (sensu lato)* couvre une aire à peu près continue à travers l'Asie orientale et la Sibérie (Poiakrova, 1958). Mais primitivement, le parasite n'occupait que la partie orientale de cette aire, il a été décrit pour la première fois d'après un matériel d'origine japonaise par Hennings (*in* Sacardo 1902, *sub Microsphaera sambucicola*), il était également connu dans le centre de la Sibérie, près de Tomsk (Jaczewski, 1927) et de Novosibirsk (Nosbrenko, 1960). C'est donc beaucoup plus tard que sa présence a été constatée en Ukraine, puis très vite dans une grande partie de l'Est et du Nord de l'Europe. Le continent se trouve donc totalement envahi en seulement 15 ans.

Comment l'arrivée en Europe s'est-elle réalisée ? avancée progressive à travers la Sibérie occidentale et le Caucase ? ou transport direct ?. En l'absence de renseignements sur la dispersion du parasite entre sa zone d'origine et les régions d'invasion, il est difficile de conclure. Dans le cas de la première hypothèse, il est également difficile de comprendre la raison pour laquelle, après être resté confiné dans les régions orientales, le champignon aurait à partir d'un certain moment envahi le reste de son aire potentielle. Pour le moment, la seconde hypothèse d'une introduction accidentelle en Ukraine, point de départ d'une extension vers le reste de l'Europe paraît comme la plus vraisemblable.

DESCRIPTION

Le mycélium forme des taches étendues sur les deux faces des feuilles, il peut même envahir la totalité de la surface des jeunes feuilles provoquant alors quelques déformations du limbe. La production des oïdies semble très faible, et elles sont très



Carte 1 : Carte de la répartition de *Sambucus racemosa* (d'après Dupont 1990, modifié) et des stations connues de son parasite *Microsphaera vanbruntiana* var. *sambuci-racemosae* U. Braun (= *M. sambucicola* Henning)

rapidement caduques (type pseudo-oïdium de Jaczewski), de sorte qu'il est difficile d'en observer. Elles sont de forme cylindrique, tronquées aux extrémités et mesurent 27-32 × 11-15 µm.

En revanche les cleistothèces apparaissent en grand nombre au point de constituer parfois de véritables croûtes à la surface inférieure des feuilles. Leur diamètre varie entre 104 et 155 µm, le nombre de fulcres est élevé, 18 à 27 (jusqu'à 45 d'après Braun) et presque toujours plus de 20, ils sont cloisonnés près de leur base et l'apex se divise dichotomiquement 4 à 6 fois, les divisions terminales sont subparallèles. Les asques sont au nombre de 3 à 7 par ascocarpe, ils contiennent 4 à 6 ascospores, ellipsoides ou subglobuleuses, mesurant 20-27 × 11-14 µm.

POSITION TAXONOMIQUE

Dénommé *M. sambucicola* par Henning qui le décrit en 1901 (voir Saccardo, 1902), cette espèce est considérée comme proche de *M. grossulariae* (Wallr.) Lév. Elle s'en distingue par des cleistothèces moitié plus gros et possédant presque deux fois plus de fulcres.

Il semble que les auteurs russes aient ignoré ce binôme, rapportant le champignon à *M. vanbruntiana*, espèce décrite par Gerard (1875) sur *Sambucus canadensis* en Amérique du Nord.

Braun (1984) conserve la même dénomination spécifique, mais considère cependant qu'il s'agit de deux taxons différents avec seulement le rang de variétés : *M. vanbruntiana* var. *vanbruntiana* et var. *sambuci-racemosae*. Là aussi l'une des différences essentielles résidant dans le nombre de fulcres.

Il semble, d'aprés mes observations, que *M. grossulariae* et la variété *vanbruntiana* sont beaucoup plus proches entre eux que de la variété *sambuci-racemosae*. Si cela se confirmait, il paraîtrait judicieux de rétablir le binome spécifique de Henning.

Remerciements : Je tiens à exprimer ma profonde reconnaissance à tous ceux qui ont bien voulu collaborer à la prospection de ce parasite, soit à titre individuel, soit dans le cadre du département santé des forêts

BIBLIOGRAPHIE

BLUMER S., 1967 — *Echte Mehltaupilze (Erysiphaceae)*. Fischer, Jena. 436 p.

BRAUN U., 1984 — Description of new species and combinations in *Microsphaeria* and *Erysiphe*. *Mycotaxon* 19 : 375-383.

BRAUN U., 1987 — *A monograph of the Erysiphales (Powdery Mildew)*. Cramer, Berlin. 700 p.

CIFERRI R. & CAMERA C., 1962 — Tentativo di elencazione dei funghi italiani. I : Erisifali. *Quaderno, Istituto botanico Universita Pavia* 21 : 1-48.

DUPONT P., 1990 — *Atlas partiel de la flore de France*. Secrétariat de la Faune et de la Flore, Paris.

DURRIEU G., 1995 — A *Microsphaeria* on red elder (*Sambucus racemosa*) in western Europe. *Mycological Research* 99 : 323-324.

GELIUTA V. P., 1981 — Novi dlia microflori URSR vidi rodu *Microsphaeria* Lev. *Ukrainskij botanicnij zurnal* 38 : 50-52

GERARD W. R., 1875. New fungi. *Bulletin of the Torrey botanical club* 6 : 31.

JACZEWSKI A. A., 1927 — *Karmanii opredelitel gribov*. Leningrad. 626 p.

NOSBRENKO M. V., 1960 — Glavneiechie gribnie bolesnizelenik nasajdenie g. Novosibirska. *Ozelenenie gorodov Zadpanoi Sibiri* : 57-64

POIAKROVA A. J., 1958 — Caprifoliaceae *in : Flora SSSR* 25 : 419-584. Moscow.

SALMON E. S., 1900 — A monograph of Erysiphaceae. *Memoirs of the Torrey botanical club* 9 : 1-292.

SACCARDO P. A., 1902 — *Sylloge Fungorum omnium hucusque cognitum* 16 : 104.

SCHWARZ U., 1992 — *Microsphaeria vanbruntiana* in Frankreich nachgewiesen. *Nachrichtenblatt Deutsches Planzenschutzdienst* 44 : 89.

VIENNOT-BOURGIN G., 1956 — *Mildious, Oïdiums, Caries, Charbons, Rouilles des plantes de France*. Lechevallier, Paris.

LENTINUS CLITOCYBOIDES HENNINGS IS A *RUSSULA*

Annemieke VERBEKEN, Bart BUYCK (*), Ruben WALLEYN (**)

Vakgroep Morf., Syst. & Ecol., Groep Plantkunde,
Universiteit Gent, Ledeganckstraat 35, B-9000 Gent, BELGIUM
(*) Laboratoire de Cryptogamie, Muséum National d'Histoire naturelle,
12 Rue Buffon, F-75005 Paris, FRANCE
(**) National Botanic Garden Belgium, Domein van Bouchout
B-1860 Meise, BELGIUM

SUMMARY — *Lentinus clitocyboides* Henn. is found to be conspecific with *Russula subfistulosa* var. *apsila*. The new combination *Russula clitocyboides* (Henn.) Verbeken & Buyck comb. nov. is proposed.

RÉSUMÉ — LENTINUS CLITOCYBOIDES HENNINGS EST UNE RUSSULE. Il est établi que *Lentinus clitocyboides* Henn. et *Russula subfistulosa* var. *apsila* sont conspécifiques. La nouvelle combinaison *Russula clitocyboides* (Henn.) Verbeken & Buyck comb. nov. est proposée.

INTRODUCTION

Hennings (1902) described *Lentinus clitocyboides* as a lignicolous agaricoid fungus with a macroscopical resemblance to *Clitocybe sessilis* Fr.. The holotype with the accompanying water colour of *Lentinus clitocyboides*, deposited at B, was later examined by Pilát (1936: 112) who provided a revised description. Pilát suggested that *Pleurotus* might be a more appropriate genus for this species because of the thin-walled hyphae and the entire edge of the lamellae. The holotype is now lost, probably destroyed by the fire of 1943 at B, and Pegler (1983: 229) studied the isotype collections deposited at PC and K for his world monograph of the genus *Lentinus*. He suggested that the material probably represents a *Lactarius* because of the typical amyloid spore ornamentation.

RESULTS

Our study of both isotypes confirms that the material represents a member of the *Russulaceae*, but since no pseudocystidia (sensu Buyck, 1991) are present in the hymenium *Lentinus clitocyboides* belongs obviously to *Russula* (Fig.1). It is identical to *Russula subfistulosa* var. *apsila* described by Buyck (1990) in his revision of the genus *Russula* in tropical Africa. The following new combination is thus proposed:

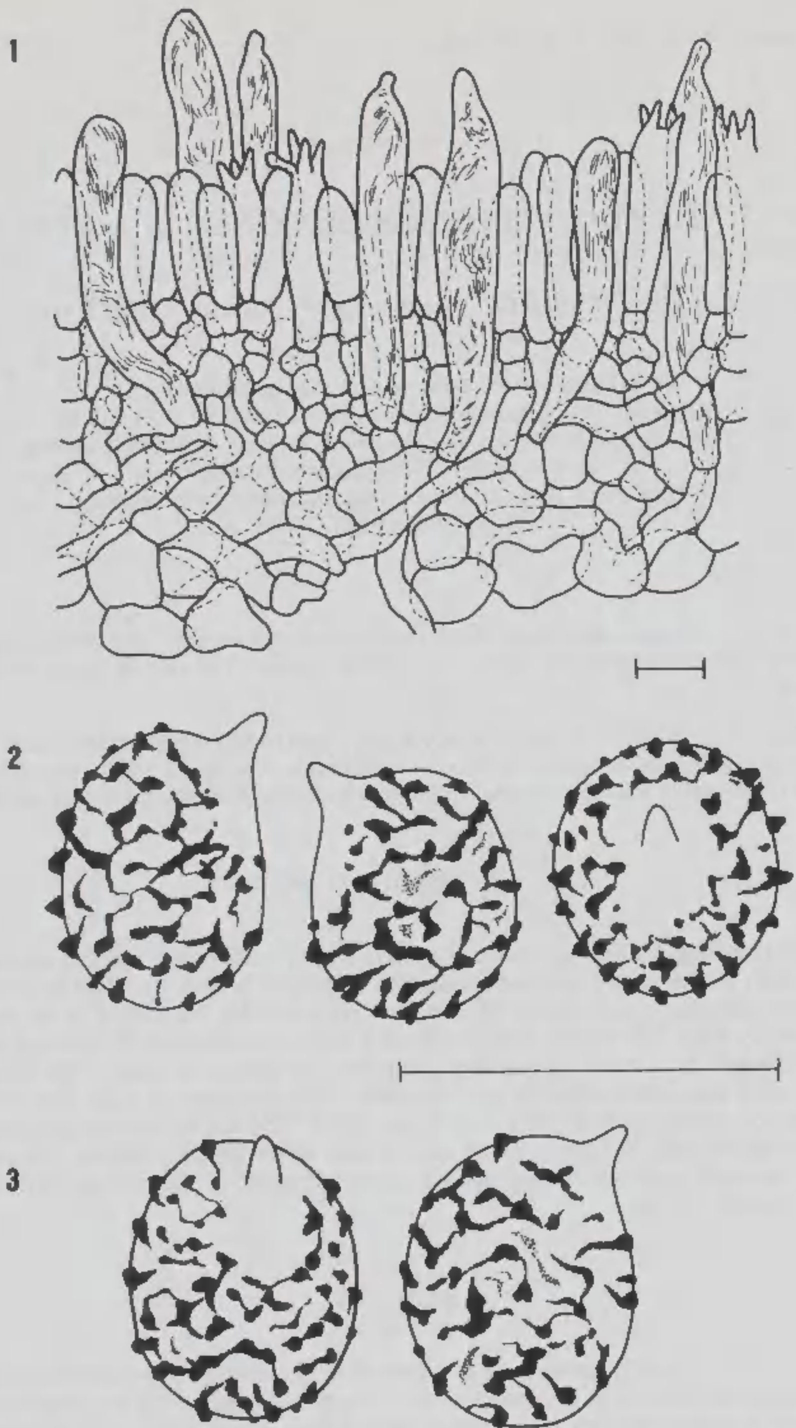


Fig. 1-3: *Russula clitocyboides*: 1. Hymenium, subhymenium and trama (*Watling* 24176); 2. spores (*Zenker* 1899); 3. spores (*Watling* 24176); bar = 10 µ

Russula clitocyboides (Henn.) Verbeken & Buyck **comb. nov.** — fig. 1-3.
basionym: *Lentinus clitocyboides* Henn., Bot. Jahrb. Syst. 30: 45 (1902).
syn.: *Russula subfistulosa* Buyck var. *apsila* Buyck, Bull. Jard. Bot. Belg. 60: 193 (1990).
illustr.: Buyck 1993: 385, fig. 242, plate 60.2, as *R. subfistulosa* var. *apsila*; scale of water colours = "x 2", not "x 1" as indicated)

Revised description

Pileus 4-6 cm diam., firm, depressed to almost applanate, sometimes umbilicate; pellis mat, humid but never viscid, non-hygrophanous, sometimes slightly squamulose, brownish grey to dark snuff brown, darkening towards margin, becoming milky coffee-coloured when older. *Stipe* 3-5 x 0,5-1 cm, solid, becoming more or less fistulous when older, cylindric, finely felty, greyish brown, dull pale snuff brown. *Lamellae* slightly decurrent, narrow (1 mm), pale cream-colour to pale greyish or yellowish grey; edge entire. *Context* white, slowly and slightly reddish just underneath the stipitipellis. Spore print colour unknown.

Spores ellipsoid, ornamentation of obtuse warts usually aligned in short ridges or connected by fine lines into a very partial to almost complete reticulum, 5.9-6.8-7.3-8.1 x 5.0-5.7-6.2-6.7 µm (Q = 1.11-1.17-1.19-1.23 (1.32)); suprahilar plage distinct, not amyloid. For other microscopic features see Buyck (1993).

Distribution

Cameroon: CENTRAL SOUTHERN PROV., Bipindi, on rotten wood, Sept. 1898, *Zenker* 1899 (isotypi K, PC); SOUTH WESTERN PROV., Korup Nat. Park, near Mundema, rainforest, transect P, 33-50 m alt., March 1991, *Watling* 24176 (E, as *Lactarius pellucidus*); ibid., transect P from river Mara, March 1991, *Watling* 24208 (E, as *Lactarius phlebonemus* f. *brunneus*).

Zaire: EQUATOR PROV., Binga, 300 m alt., drier rainforest with *Gilbertiodendron dewevrei*, Sept. 1938, *Goossens-Fontana* 2099c et icon. (holotypus *Russula subfistulosa* var. *apsila*, BR); UPPER KATANGA PROV., Kipopo, between debris on soil in dry evergreen forest ('Muhulu'), March 1959, Schmitz-Levecq 123 (BR, as *Lactarius* sp.).

DISCUSSION

1.The short diagnoses published by Hennings and Buyck for this taxon are here supplemented with field data from Watling. The description of *Russula subfistulosa* var. *apsila* was based on an aquarel not accompanied by field notes.

As the specific epithet suggests, the habit of *Russula clitocyboides* reminds one of *Clitocybe*-like agarics because of the strongly depressed cap and the numerous, decurrent lamellae. More specifically, *Russula clitocyboides* resembles *Pseudoclitocybe*

cyathiformis (Bull.: Fr.) Singer according to Watling's field notes or *Clitocybe sessilis* according to Hennings. This clitocyboid habit combined with the brittle nature, so typical of the heteromerous context of Russulales, explains why this *Russula* is often taken in the field for a *Lactarius*, in spite of the absence of latex.

2. *Russula clitocyboides* belongs to section *Fistulosae* subsection *Fistulosinae* R. Heim ex Singer. The species especially differs from *R. subfistulosa* Buyck in the much darker basidiomata with a strongly depressed cap and decurrent lamellae. Also the ecology of both species is very different : *Russula clitocyboides* occurs in the dryer parts of the *Gilbertiodendron dewevrei* rain forest and in dry evergreen forest ('muhulu'), whereas *R. subfistulosa* is only known from *Brachystegia* woodland ('miombo').

collection	length x width (µm)	length/width ratio
Zenker 1899	6.0-6.9-7.8 x 5.2-5.8-6.7	1.11-1.17-1.25
Watling 24208	(6.3)6.5-7.3-8.1 x 5.6-6.2-6.7	1.08-1.18-1.32
Watling 24176	5.9-6.8-7.8 x 5.0-5.7-6.5	1.11-1.18-1.30
Goos.-Font. 2099c	6.6-7.1-7.[redacted] x 5.5-5.9-6.5	1.12-1.19-1.23
total (n=80)	**6.2-7.0-7.9 x 5.3-5.9-6.6**	**1.10-1.18-1.28**

Table 1. Comparison of spore measurements for individual collections (based on 20 spores/specimen, Q = length/width ratio.

Table 1. Comparison of spore measurements for individual collections (based on 20 spores/specimen, Q = length/width ratio).

ACKNOWLEDGEMENTS — We express our sincere gratitude to the directors and curators of the Herbaria of Edinburgh (E), Kew (K), Meise (BR) and Paris (PC) for the loan of the specimens. The National Foundation for Scientific Research (N.F.W.O., Belgium) is acknowledged for funding the research of A. Verbeken.

REFERENCES

BUYCK B., 1990 — Nouveaux taxons infragénériques dans le genre *Russula* Persoon en Afrique centrale. *Bulletin du Jardin Botanique National de Belgique* 60: 191-211.

BUYCK B., 1991 – The study of microscopic features in *Russula*. 2. Sterile elements of the hymenium. *Russulales News* 1: 62-85

BUYCK B., 1993 — *Russula* I (Russulaceae). *IN*: J. RAMMELOO & P. HEINEMANN (Eds.), *Fl. Ill. Champignons Afrique Centr.* 15: 335-408, pl. 55-68.

HENNINGS P., 1902 — Fungi camerunenses novi III. *Botanische Jahrbücher für Systematik, Pflanzengeschichte und Pflanzengeographie* 30: 39-57

PEGLER D. N., 1983 — the genus *Lentinus*, a world monograph. *Kew Bulletin. Additional series* 10: 1-281.

PILAT A., 1936 — Revision der tropischen *Lentinus*-Arten aus dem Herbar des Botanischen Museums in Berlin-Dahlem. *Annales mycologici* 34: 108-140.

OBSERVATIONS ON A POPLAR LEAF INFECTION OCCURRING IN NORTH-EAST CHINA: THE GREY SPOT DISEASE *

Michel MORELET ** and Pierre SIGAUD ***

** Laboratory of Forest Tree Pathology, INRA, 54280 Champenoux, France
*** North-eastern Research Station, ONF, Parc de Haye, 54840 Velaine en Haye, France

ABSTRACT — A disease affecting poplar leaves and shoots has been reported in north-eastern China. Local field observations and identification carried out from 1991 to 1993 match Chinese literature on the alleged infecting agent, *Coryneum populinum*, an asexual form of the fungus *Mycosphaerella mandshurica*. However, taxonomic surveys undertaken in INRA-Nancy (France) do not confirm the identity of the former binomial nor the connection with the latter: samples examined and cultivated in France correspond to *Pollaccia mandshurica*, the asexual form of a new species, which has previously been described as *Venturia mandshurica*.

RÉSUMÉ — L'étude in situ, puis au laboratoire, de la maladie des taches grises qui affecte les feuilles et les pousses des Peupliers dans le nord-est de la Chine, a été entreprise par les auteurs de 1991 à 1993. Cette maladie est attribuée par les auteurs chinois au champignon *Coryneum populinum*, anamorphe de *Mycosphaerella mandshurica*. Les observations de terrain corroborent les études symptomatologiques et épidémiologiques publiées par ces auteurs. En revanche, l'étude microscopique et culturale de l'agent isolé des lésions, ainsi que l'établissement de son cycle vital, montrent que nous sommes en présence d'une tavelure typique, due à *Pollaccia mandshurica* (= *Coryneum populinum sensu* Ju *et al.* non sensu Bresadola) dont la téléomorphe est *Venturia mandshurica*.

KEY WORDS: *Coryneum populinum*, *Mycosphaerella mandshurica*, *Pollaccia mandshurica* , *Venturia mandshurica*, *Populus simonii*, *Populus simonii* x *P. nigra*, grey spot disease, scab, poplar, leaves, shoots, China.

INTRODUCTION

Natural conditions

North-eastern China is a vast territory formerly referred to as Manchuria, now divided into the three Provinces of Liaoning, Jilin and Heilongjiang.

* Most results of this paper were presented at the 37 th session of the International Poplar Commission (Izmit, Turkey, October 1994) which proceedings were not published.

Its centre is occupied by the Northeastern Plain, bordered by mountain ranges in the west, the north and the east, and open to the Yellow Sea in the south.

Field observations stated in this paper took place in the Korqing area, a piece of land stretching across the common border of Liaoning, Jilin and Inner Mongolia, between latitudes 41-44° N. and longitudes 117-125° E.

The climate is typically continental, with a semihumid influence in the south, and a pronounced trend towards aridity in the north-west. Mean annual rainfall varies from 350 mm to 550 mm, with important variations from year to year. More than two-thirds of the annual rainfall occurs from mid June to mid August.

Evaporation is intense (1300 mm to 2100 mm annually, i.e. from twice to six times the annual precipitation), linked to permanent winds (mean annual speed from 3.5 m/s to 4.5 m/s), which become dry sand storms during spring (April to June).

Average annual temperatures range from 5°C to 9°C according to the location, for a growing season of 150 to 170 frost-free days. January is the coldest month (mean annual temperature of −9°C to −16°C, with absolute minima down to −33°C), while July is the hottest (monthly average of 24°C, with an absolute maximum of 40°C).

Four seasons are therefore clearly marked, with dry and cold winters, dry and windy springs, temperate and rainy summers, and temperate but dry autumns.

Altitude is low to moderate, ranging from 15 m in the south to 270 m in the northwest.

Soils are generally formed by quaternary sandy deposits, with local patches of dark clays in lowlands or along rivers. pH values are always high, above 7, reaching 10 in alkaline lowlands.

Natural vegetation is typical of grasslands, with scarce forest relics of poplar and willow along flat banks of large rivers, or even temperate deciduous mixed relic stands of oak, elm and alder along deep narrow gorges. Artificial stands have been widely planted since the 1950's for land reclamation and soil protection, and most of the area has been afforested under the so-called "Three North Sherterbelt Afforestation Programme". Poplar is the main species used in those stands,in which both native balsams (*Populus simonii, Populus pseudosimonii*) and more recent hybrid selections (*Populus simonii* x *Populus nigra*) can be found.

Former studies and achievements

Grey-spot disease has been reported endemic in Hebei, Henan, Shaanxi, Xinjiang, Heilongjiang, Jilin and Liaoning, the most serious attacks occurring in the Northeast (Anonymous, 1984, 1987, 1988).

Many poplar clones or species are scored as susceptible, such as: *Populus simonii, P. pseudosimonii, P. cathayana, P. davidiana, P. nigra var. thevestina, P. nigra var. italica, P.* x *berolinensis, P.* x *simonigra* var. *baicheng 41, P.* x *simonigra* var. *Xiaohei* (Anonymous, 1984, 1987, 1988), along with other broadleaved species such as *Betula sp* (?) (Anonymous, 1988).

Some other clones or species are ranked as relatively resistant to the grey-spot disease: they include *Populus alba, P. bolleana, P. x euramericana var. Robusta, P.* x *euramericana var. canadensis, P.* x *euramericana* (?) var. *Leader Stalin, P. deltoides* (?) var. *Shanhaiguan, P. davidiana* x *bolleana*, (Anonymous, 1984, 1987, 1988).

The disease was mentioned as early as 1960 and the associated pathogen was described, illustrated and identified as *Coryneum populinum* Bresadola in Ju *et al.*

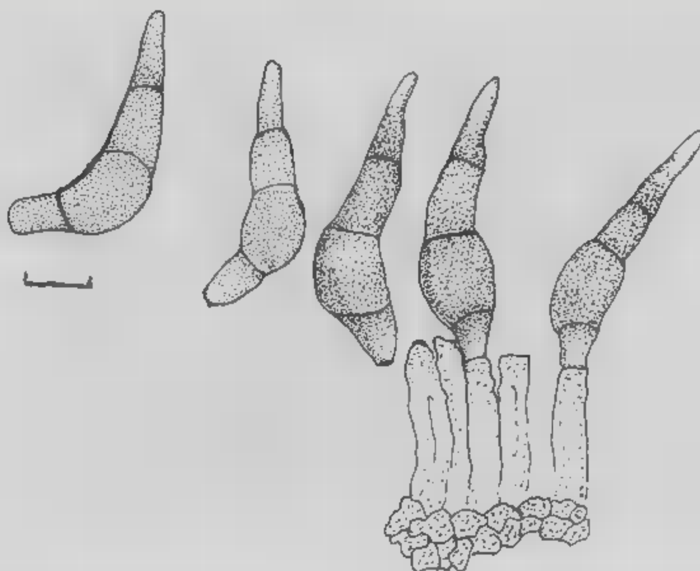


Fig. 1 — "*Coryneum populinum*" *sensu* JU *et al.*: conidia and conidiophores from living leaves of *Populus simonii* (?) (redrawn from ZHAO Li Ping, in Anonymous, 1984) (bar, 10 µm). Conidies et conidiophores de *Coryneum populinum* au sens de JU *et al.* sur feuilles vivantes de *Populus simonii* (?) (d'aprés ZHAO Li Ping, in Anonymous, 1984) (échelle, 10 µm)

(1965) (Fig. 1). Since then, it has been studied mainly in Liaoning and Heilongjiang but with *Mycosphaerella mandshurica* Miura as the alleged infecting agent. It was considered to be the teleomorph of a *Coryneum populinum sensu* Ju *et al.* (*sub nom. Coryneum populinum* Bres.) (Anonymous, 1984).

The main Chinese studies have focused on accurate description and identification of the parasite (Anonymous, 1984, 1987, 1988; Ju *et al.*, 1965; Xiang *et al.*,1988), on laboratory cultivation (Xiang *et al.*,1986), on comparing susceptibility among clones (Xiang *et al.*, 1986), on scoring of injuries (Hao *et al.*, 1991), on the dynamics and the prediction of epidemic cycle (Xu *et al.*, 1991 a & b), and on early detection of clonal resistance, etc.

The following paragraph will review field observations undertaken from 1991 to 1993. All are fully in accordance with relevant Chinese literature.

Field observations of infections by the grey spot disease

For most poplar clones, flushing occurs from mid April to early May, in both nursery and plantation. The very first pathological symptoms on the leaf do not appear before late May. In many places, these patterns have been noticed from one week to ten days after a sudden fall in day-time temperature. This is generally linked to localized rainfall, at a time when air temperatures rise rapidly during the day.

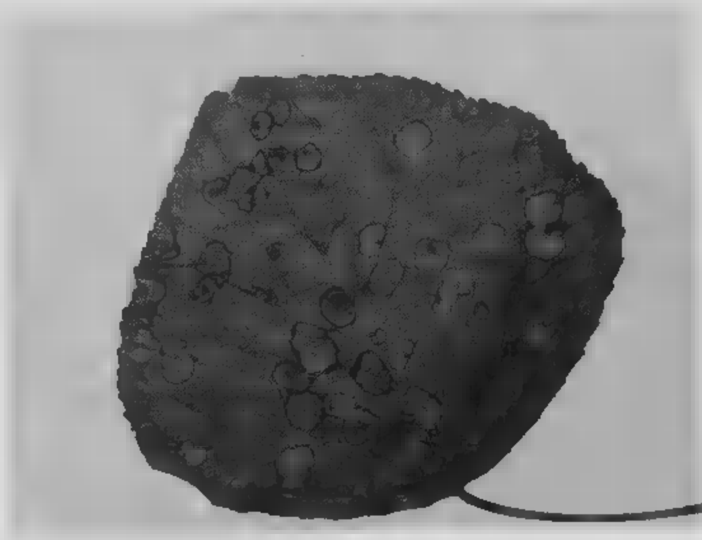


Fig. 2 — The grey spot disease: leaf injuries on *Populus simonii* x *P. nigra*. Maladie des taches grises: symptômes sur feuille de *Populus simonii* x *P. nigra*.



Fig. 3 — The grey spot disease: shoot injuries with a typical "charred" hook. Maladie des taches grises: attaque sur jeune pousse qui se dessèche et se recourbe en forme de crochet.

In nurseries, initial infections are noticed on basal leaves of two — or three-year old plants. At that point, poplar leaves are usually small-sized, thick and dark. Brown, circular, 5 mm to 1 cm-wide spots appear on the upper surface of the leaf. After one to two weeks, they form a depressed area, with a white-grey (silvery) characteristic colour inside, bordered by a dark brown margin (Fig. 2). At this stage, damage is limited: the surface of the blotches does not seem to increase significantly, and injuries seldom lead to leaf abcission.

After a few days, some black cracks burst into dark points on the smooth silvery surface, indicating the development of a new generation of conidia (Fig. 2).

By the middle of June, at the beginning of the rainy season, new infectious patterns appear on the surface of young soft tissues, developing leaves or tender terminal tips.

Irregular blotches with dark margins covered by a dark olive-green powder develop rapidly, warping the growing material, leading within two to three days to a complete decay of the organ. When a petiole is damaged, the leaf dies and falls off.

Damage affecting terminal tips or buds is much more serious, since it generally necroses the whole growing zone of soft green tissues. The apex of the shoot turns to a withered black hook characteristic of the disease. The apical part looks as if it had been charred (Fig. 3).

During the rainy season (mid June to mid August), the disease can therefore display different patterns according to the infected area: from the stem to the tip, along a young twig, circular, black-margined silvery spots, generally on small leaves, then scattered or coalescent dark olive-green irregular blotches on larger summer leaves, and even a black "charred" hooked apex can be noticed.

These symptoms may vary slightly from clone to clone.

According to the literature, the fungus winters in conidia form in the litter (leaves and twigs fallen on the ground) or on the bark of the branches. Wind, rain splashes propagate this material and when minimum requirements in terms of temperature and humidity are met, conidia are able to germinate and thus infect a new area (Xiang *et al.*, 1986, 1988).

In Heilongjiang, a clinal relationship has been shown between air humidity in summer and intensity of damage to leaves and young shoots, matching the corresponding periods of conidia production (Xu *et al.*, 1991a).

Studies seem to indicate peak infection in early July, while by late August few new blotches are to be expected. However, sudden outbreaks can be noticed in the field at this time, and they can be traced easily since they are separated by an undamaged area along the branch (Xu *et al.*, 1991 a).

Damage is obviously much more serious in the nursery than in mature plantations. In some nurseries, where inadequate space does not allow for crop rotation, and where poplars have been cultivated on the same site for many years, there have been reports of nearly complete destruction by the parasite.

Young plants up to age 5 or 6 can be heavily affected in the plantation.

The disease does not generally kill infected trees. The damaged leaves are still functional but photosynthesis is reduced, and vigour therefore decreased. Some studies estimate that up to 73 % of the annual growth may be lost at age 1 (Hao *et al.*, 1991). Weaker trees at the end of the first growing season are more likely to suffer from frost injuries during winter, and from other pest and insect hazards the following year.

Susceptibility / resistance to the disease seems under strong genetic control with high inheritability; the following surveys were made on different clones in 1991:

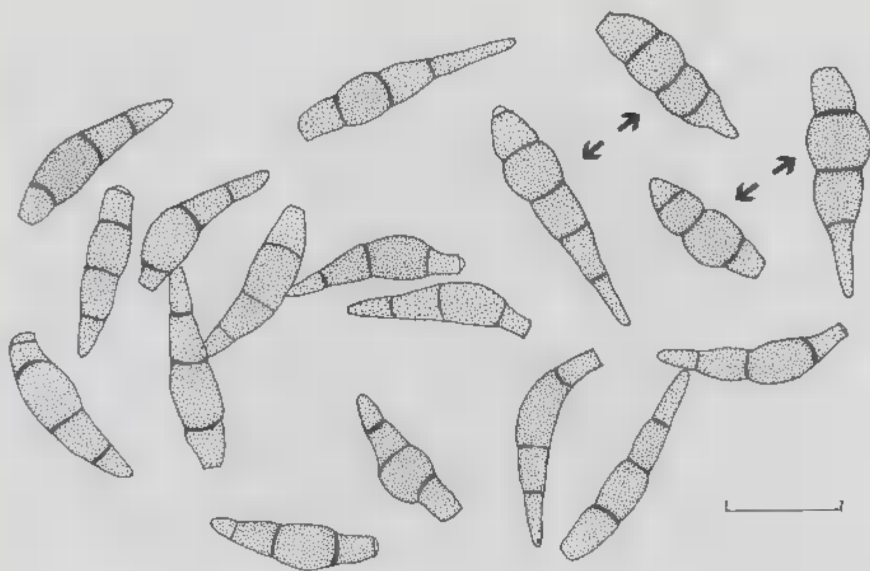


Fig. 4 — *Pollaccia mandshurica* (PFN 1466, holotype): mixture of conidia from shoots (arrows) and living leaves of *Populus simonii* x *P. nigra* (bar, 20 µm). Conidies de l'holotype de *P. mandshurica* prélevées sur pousse (flèches) et feuilles vivantes de *Populus simonii* x *P. nigra* (échelle, 20 µm).

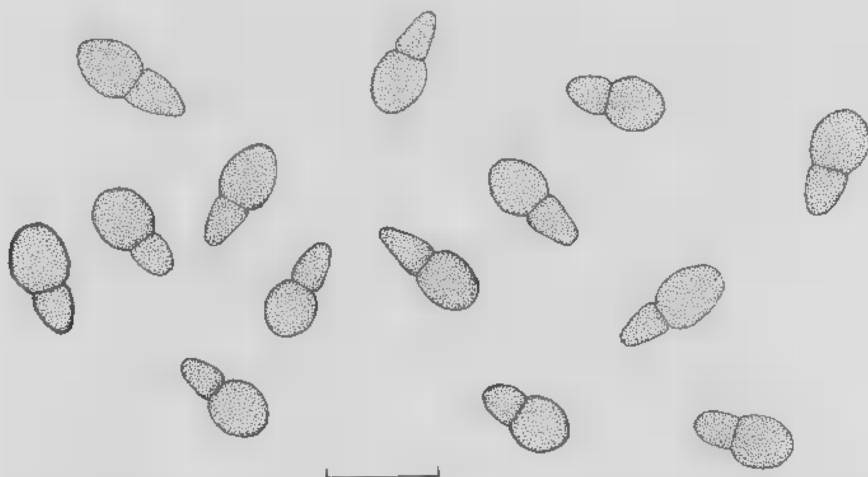


Fig. 5 — *Venturia mandshurica* (PFN 1470, holotype): mature ascospores ejected onto a slide from ascomata on dead leaves of *Populus simonii* x *P. nigra* (bar, 20 µm). Ascospores mûres de l'holotype de *V. mandshurica* projetées sur lame à partir d'ascocarpes sur feuilles mortes de *Populus simonii* x *P. nigra* (échelle, 20 µm).

All *P.* x *euramericana* hybrids, *P. deltoides, P. maximowiczii* or *P. trichocarpa* progenies display a very high, if not complete, resistance to the infection, at nursery stage (age 1 or 2). Most *P. simonii, P. nigra s.l.* and their hybrids *P.* x *simonigra* show a moderate to high susceptibility.

It is not known whether resistance to the parasite was taken into account in the Chinese poplar breeding programme in the 1960's.

Many of the pathological patterns and symptoms reported above are very similar to the aspen scab caused by *Venturia tremulae* Aderhold (anamorph: *Pollaccia radiosa* (Lib.) Bald. et Cif.) in Europe and North America (Morelet 1983).

Taxonomic examination

Infected leaves and shoots displaying morphological patterns of the grey-spot disease and originating from Liaoning were examined in summer, 1992 in the INRA laboratories in Nancy, France.

In addition, some damaged leaves wintered in 1992/1993 in Inner Mongolia on the ground surface of a production nursery were studied in 1993.

The results of the microscopic examination were as follows:

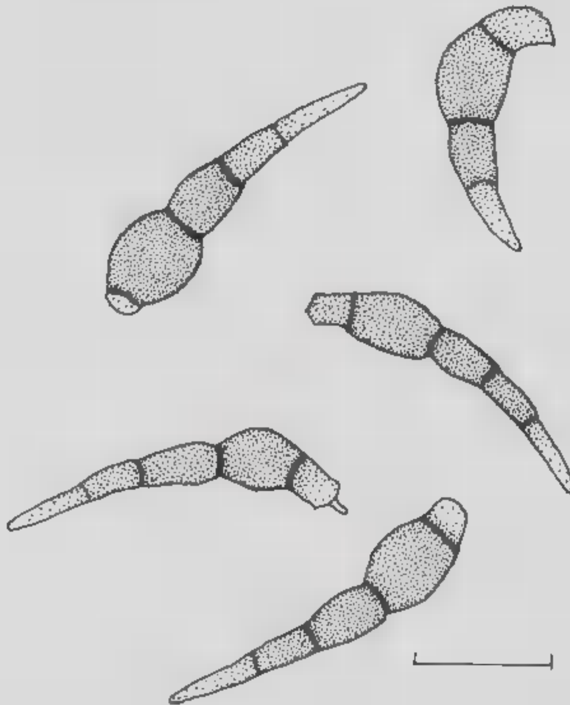


Fig. 6 - - *Pollaccia mandshurica*: conidia from monoascospore culture of *Venturia mandshurica* (PFN 1470, holotype) (bar, 20 µm). Conidies de *Pollacia mandshurica* obtenues *in vitro* à partir d'une souche monoascospore de *Venturia mandshurica* (échelle, 20 µm).

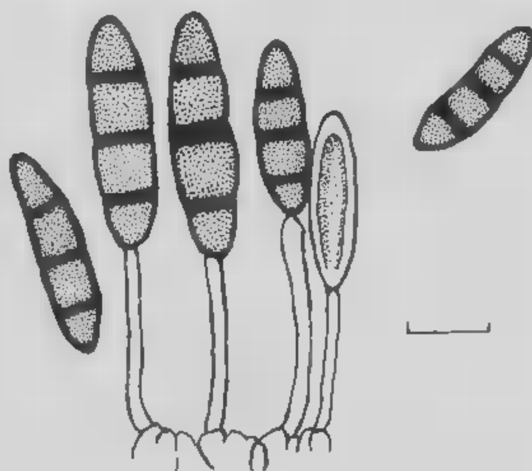


Fig. 7 — *Coryneum populinum* Bresadola: conidia and conidiophores from bark of *Populus nigra* (redrawn from Bresadola 1892) (bar, about 10 µm). Conidies et conidiophores de *Coryneum populinum* sur écorce de *Populus nigra* (d'aprés Bresadola 1892) (échelle, environ 10 µm).

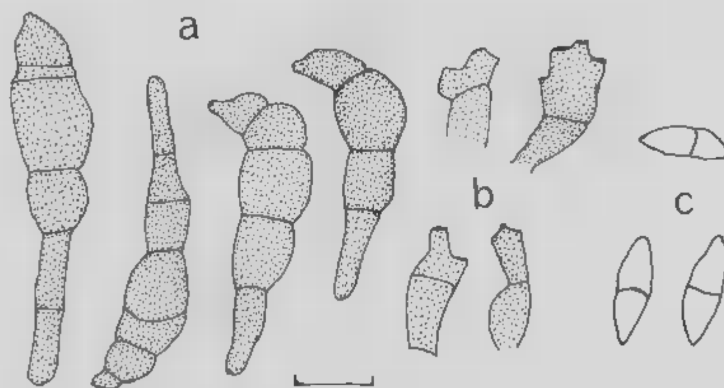


Fig. 8 — *Mycosphaerella mandshurica* Miura: conidia (a), conidiophores (b) and ascospores (c) from leaves of *Populus laurifolia* (redrawn from Miura 1928) (bar, 10 µm). Conidies (a), conidiophores (b) et ascospores (c) de *Mycosphaerella mandshurica* sur feuilles de *Populus laurifolia* (d'aprés Miura 1928) (échelle, 10 µm).

— from the spots on living leaves: black, abundant, intraepidermic then subcuticular epiphyllous stromatic acervuli. Conidiophores formed from the upper cells of the stroma, erect, cylindrical, pale brown, 1-2 septate, up to 17 µm. long. Conidiogenous cells cylindrical, with up to 3 annellations (in pure culture) but usually with a single jagged collarette. Conidia fusiform, often curved, tapered towards an obtuse to subacute apex, less tapered towards a truncate base, pale brown, (1)-2-3-(4-5) euseptate (mainly 3-septate), constricted at the septa, 24-39 × 6,6-9,9 µm.(Fig. 4). In accordance with these observations, typical of the genus *Pollaccia* Bald. et Cif., and after a comparative study of all species recognized in this genus, (from *Populus*), Morelet (1993) proposed for this taxon the binomial: *Pollaccia mandshurica* as a new species. Isotype in PC Herbarium.

— from wintered leaves: pseudothecia immersed, subepidermal, globose, with a papillate ostiole set with septate, brown setae, up to 133 µm long. Asci cylindrical to oblong, short stalked, bitunicate, 8-spored, 84-120 × 16,6-18,5 µm. Ascospores pale yellow, broadly elliptical, septate in the lower third, constricted at the septum, smooth, 18-22 × 9-11 µm (Fig.5). This teleomorph, typical of the genus *Venturia* Sacc., was described as a new species: *Venturia mandshurica* Morelet (Isotype in PC Herbarium), and the connection with *Pollaccia mandshurica* was ascertained in pure culture by the development of the latter morph (Fig.6) from single ascospore inoculum (Morelet, 1993). Strains are preserved in LCP 95.3820, MUCL 39221, MPFN 307.

Concerning *Coryneum populinum* and *Mycosphaerella mandshurica:*

A comparison of descriptions and illustrations of *Coryneum populinum sensu* Ju *et al.* (Fig. 1) shows that they are different from *Coryneum populinum* Bres. (Fig.7) described on the bark of a *Populus nigra* trunk near Trent (Italy) by Bresadola (1892). According to Sutton (1975) the latter species looks very much like a *Seimatosporium* Cda. *Coryneum populinum sensu* Ju *et al.* is neither a *Coryneum* Nees ex Schw., nor a *Seimatosporium* but undoubtedly a *Pollaccia*, similar to *P. mandshurica*. Therefore it is also different from the first unnamed anamorph of *Mycosphaerella mandshurica* (cf. infra) and the connection between them reported by Xiang *et al.* (1988) is questionable.

An attempt to obtain Miura's specimens of *Mycosphaerella mandshurica* was not successful. But judging by the description Miura gave of this fungus (Miura, 1928), it seems that he described two unnamed anamorphs associated to the teleomorph, but without giving experimental evidence for affiliation.

The first one shows some similarities in conidial shape with *Pollaccia mandshurica* (Fig. 8a), but noticeable differences in sympodial conidiogenous cells (Fig. 8b). The second anamorph is probably an *Asteromella* state of the *Mycosphaerella*.

Finally, *Mycosphaerella mandshurica* is the most appropriate name for the teleomorph, and therefore should not be confused with *Venturia mandshurica*.

ACKNOWLEDGEMENTS — We would like to thank the Heilongjiang Institute for Forest Protection (Qiqihar, China) for its kind collaboration in providing us with useful literature, Dr Michael CORLETT (Ottawa, Canada) for his communication of MIURA's diagnosis of *Mycosphaerella mandshurica*, Dr. Shigeru KANEKO (Ibaraki, Japan) for his communication of MIURA's pictures of *M. mandshurica*, Dr. E. KIFFER (Nancy, France) and Ms V. MOORE (Paris, France) for reviewing the English manuscript.

REFERENCES

ANONYMOUS 1984 — [*Diseases of Forest Trees in China*]. Forestry Press of China, Chinese Academy of Forestry, Beijing: 246 p.

ANONYMOUS 1987 — [*Diseases of poplars and control methods*]. Forestry Press of China, Beijing: 109 p.

ANONYMOUS 1988 — *Poplar*. Heilongjiang People's Press, Harbin, China: 450 p.

BRESADOLA G., 1892 — *Fungi Tridentini novi, vel nondum delineati, descripti et iconibus illustrati*. Trento, Vol. 2: 46.

HAO H., WANG T.Z., XU C.Q., WU L.J., WEI J.H., 1991 — [Control index of Grey Leaf-spot of *Populus simonii x nigra*]. *Journal of Northeast Forestry University, Harbin, China* 19: 13-20.

JU G.Z., XU S.Q., ZHANG L.S., DONG Y., 1965 — [Studies on the grey spot disease of poplars]. *Scientia Silvae, China* 10: 325-330.

MIURA M., 1928 — *Flora of Manchuria and East Mongolia. Part III Cryptogams, Fungi*. South Manchurian Railway Company, Industrial Information N° 27: 161-162.

MORELET M., 1983 — *Systématique et biologie des Venturia inféodés aux Peupliers de la Section Leuce*. Thèse de Doctorat, Université Henri Poincaré, Nancy I, 161 p.

MORELET M., 1993 — Note préliminaire sur quatre Ascomycètes pathogènes. *Annales de la Société des Sciences naturelles et d'Archéologie de Toulon et du Var*, 45: 217-220.

SUTTON B.C., 1975 — Coelomycetes. V. *Coryneum*. *Mycological Papers*, 138: 224 p.

XIANG C.T., JIANG L., YAN S.Z., 1986 — [Study on the *Coryneum* swollen stem canker of Poplars]. *Journal of Northeast Forestry University, Harbin, China* 14: 1-10.

XIANG C.T., HE B.Z., LIU P., 1988 — [Study on teleomorph of fungus causing *Coryneum* swollen stem canker of Poplars]. *Journal of Northeast Forestry University, Harbin, China* 16: 8-11.

XU C.Q., WANG T.Z., HAO H., WU L.J., WEI J.H., 1991a — [The epidemic dynamics of grey leaf spot of *Populus simonii x nigra*]. *Journal of Northeast Forestry University, Harbin, China* 19: 8-16.

XU C.Q., WANG T.Z., HAO H., WU L.J., WEI J.H., WANG Z.Y., HU X.H., DU T.R., HUANG F.C., SUN G.Y., 1991b — [A study on the forecasting and prediction of the grey leaf spot of *Populus simonii x nigra*.] *Journal of Northeast Forestry University, Harbin, China* 19: 21-27.

PRÉSENCE EN FRANCE DE *CLAVICEPS PASPALI* STEV. ET HALL SUR *PASPALUM DISTICHUM* L. ET DE L'ERGOTISME CORRESPONDANT SUR DU BÉTAIL

Guy RAYNAL

INAPG-INRA, Laboratoire de Pathologie Végétale
F-78850 Thiverval Grignon

RÉSUMÉ — *Claviceps paspali* a été découvert en 1991 en France dans le sud des Landes par l'intermédiaire de l'ergotisme nerveux qu'il provoque régulièrement sur du bétail pâturant en automne *Paspalum distichum* dans des prairies humides. Les ergots sphériques, jaunâtres, de petite taille (2-4 mm) formés dans les inflorescences, sont responsables de la toxicose. Le point est fait sur *C. paspali* dans le monde et sont rapportées des observations sur l'isolement, la culture sur milieu gélosé, la germination des sclérotes et les contaminations artificielles.

SUMMARY — *Claviceps paspali* has been discovered in 1991 in the South West of France, in the southern part of the Landes region, by the means of a nervous ergotism on cattle grazing in autumn *Paspalum distichum* in humid grasslands. The spheric, yellowish, little-sized ergots (2-4 mm) formed in the inflorescences are responsible of the toxicosis. Bibliography is reviewed on the world occurrence of *C. paspali* and observations are reported on isolation, culture on agar-medium, sclerotia germination and artificial contaminations.

MOTS CLÉS : *Claviceps paspali, Paspalum indicum*, biologie, culture *in vitro*, ergotisme.

KEY-WORDS : *Claviceps paspali, Paspalum indicum*, biology, *in vitro* culture, ergotism.

INTRODUCTION

Le genre *Claviceps* (Ascomycètes, Clavicipitales) comporte une vingtaine d'espèces, toutes parasites des fleurs des Graminées et des Cypéracées en zones tempérées et tropicales (Sprague, 1950). Les *Claviceps* produisent des sclérotes, ou ergots, à la place des grains, de dimensions et de formes variables. A la maturité de la graminée, ces sclérotes tombent sur le sol et s'y conservent. Leur germination donne naissance à des têtes sphériques pédicellées contenant des loges périthéciales, qui projettent des ascospores assurant la contamination des graminées à floraison précoce, au moment de l'anthèse. Quelques jours après l'infection, les tissus ovariens parasités

sont remplacés par un stroma mycélien qui se recouvre de courts conidiophores porteurs du stade anamorphe *Sphacelia*. Les conidies, englobées dans un abondant miellat, sont dispersées par les insectes et le vent. Elles assurent les contaminations secondaires des graminées en floraison (Campbell, 1957 ; Luttrel, 1980 ; Frederikson *et al.*, 1989 ; Raynal, 1992 ; Alderman, 1993 ; Alderman *et al.*, 1993).

Les stromas se transforment en quelques semaines en sclérotes qui remplacent les grains et sortent plus ou moins des enveloppes florales. Leur taille et leur forme varient selon l'espèce de *Claviceps* et l'espèce de graminée parasitée : pour *C. purpurea* (Fr.) Tul., particulièrement polyphage, les ergots allongés mesurent quelques millimètres chez les *Agrostis* et plusieurs centimètres chez le seigle (Smith *et al.*, 1989).

Les pertes enregistrées sur les récoltes peuvent être localement importantes, notamment pour *C. africana* chez le sorgho (Mc Laren, 1992). De plus, la présence des sclérotes dans les lots de semences peut gêner leur commercialisation, comme c'est le cas pour certaines graminées à gazon (Chastain, 1992).

Mais c'est surtout par la toxicité de leurs ergots pour l'homme et les animaux que sont connus certains *Claviceps*, dont *C. purpurea* et *C. paspali* Stev. et Hall. Leurs effets toxiques sont dus à de nombreux alcaloïdes indoliques contenus dans les sclérotes, entraînant le syndrome d'ergotisme, connu depuis des siècles en Europe et dans d'autres parties du monde, à la suite de la consommation de grains, farines, ou fourrages contenant des ergots. La toxicité des ergots dépend du type d'alcaloïde, de sa concentration, de l'espèce animale affectée et de l'organe étudié. Ces alcaloïdes peuvent agir sur le système nerveux central, le système hormonal et sur la contraction des fibres lisses (vaisseaux, utérus, intestins). Chez l'homme, l'ergotisme (mal des ardents dû à *C. purpurea*) se manifeste par des effets psychotiques (excitation, euphorie, illusions visuelles, hallucinations), des symptômes cutanés, oculaires, métrorragiques et cardiovasculaires pouvant entraîner des artérites, des gangrènes, des avortements et même la mort. De tels symptômes se retrouvent chez le bétail (Guilhon, 1955 ; Rothlin & Fanchamps, 1955 ; Purchase, 1974 ; Riet-Correa *et al.*, 1988).

L'ergot des *Paspalum dans le monde et* [redacted] *toxicité pour les animaux*

C. paspali attaque un grand nombre d'espèces de *Paspalum*, graminées d'origine tropicale et sub-tropicale dont il est spécifique (Lefebvre, 1939). Parmi ces graminées, certaines sont largement utilisées comme fourrage. C'est le cas de *P. notatum* (Bahia grass) et surtout de *P. dilatatum* (Dallis grass), très productif, qui fournit un fourrage d'excellente qualité et dont les nombreuses variétés commerciales sont répandues dans quantité de pays chauds et tempérés chauds.

Les sclérotes de *C. paspali*, grossièrement sphériques, de couleur brun-clair à jaunâtre, d'un diamètre de 1 à 4 mm, peuvent être formés à l'automne en quantités considérables. Une fois mûrs, ils tombent sur le sol où ils restent en repos jusqu'au début du printemps suivant. Progressivement, l'élévation des températures et les conditions très humides entraînent leur germination. Les têtes à périthèces, jaunâtres, portées par des stipes courts (moins d'un centimètre), projettent des ascospores filiformes (100 × 0,5-1µ) qui infectent les fleurs ouvertes des *Paspalum*. L'infection des ovaires donne naissance à un abondant miellat riche en conidies, qui rend les inflorescences collantes. Ces conidies sont dispersées par les animaux (insectes, bétail) d'où l'extension rapide de la maladie. La production de miellat, essentiellement estivale,

cesse avec la différenciation des sclérotes (Stevens & Hall, 1910 ; Neill, 1941 ; Anonyme, 1957 ; Parris & Moore, 1961 ; Langdon, 1963).

C. paspali est présent dans tous les pays où vivent des *Paspalum* sauvages et là où on les cultive. Aux Etats-Unis, il est répandu dans l'Arkansas, en Californie, Carolines du Nord et du Sud, Floride, Géorgie, Louisiane, Mississipi, Texas, Virginie. Il est également fréquent en Amérique Centrale, Afrique du Sud, Nouvelle-Zélande, Australie, Japon. En Europe, il a été mentionné en Italie (Grasso, 1948 ; Sibilia, 1962 ; Tonolo, 1965), Turquie (Kuntay & Bremer, 1947), Yougoslavie (Kispatic & Milatovic, 1958).

La toxicose (paspalum staggers) est connue partout où des *Paspalum* sont habituellement consommés par le bétail, notamment *P. dilatatum*. Elle a été rapportée aux Etats-Unis dès 1915 par Brown et Ranck et a depuis fait régulièrement l'objet de circulaires auprès des éleveurs (Simpson & West, 1952). Elle est également connue en Afrique du Sud depuis 1937 (Hindmarsh & Hart), en Australie (Noble, 1936), en Nouvelle-Zélande (Grayson, 1941).

Les animaux, notamment les bovins aux Etats-Unis et les ovins en Nouvelle-Zélande, se montrent nerveux, facilement apeurés, ont des tremblements musculaires, des mouvement désordonnés, des défauts ou pertes d'équilibre qui, parfois, entraînent des chutes brutales occasionnant de graves traumatismes. Les animaux se rétablissent rapidement lorsqu'ils cessent de consommer les *Paspalum* malades. Un faible taux de mortalité peut cependant s'observer à la suite de l'affaiblissement des animaux qui ont des difficultés à se nourrir et surtout à boire. Ces symptômes sont dus à un petit nombre d'alcaloïdes regroupés sous le nom de paspalitrèmes, à noyau indole, dérivés du tryptophane, qui conduisent aux troubles neurologiques décrits (Cole *et al.*, 1977 ; Coler & Dorner, 1986). Contrairement aux alcaloïdes de *C. purpurea*, les paspalitrèmes n'influent pas sur le système hormonal ni sur les fibres lisses. Ces substances ne sont pas présentes dans le stade conidien de *C. paspali*, mais s'accumulent dans les sclérotes au cours de leur maturation. La période dangereuse pour les animaux est donc réduite à quelques semaines, en général à la fin de l'été ou à l'automne (Simpson & West, 1952).

OBSERVATIONS

Observation de *C. paspali* dans le sud-ouest de la France, accompagné de la toxicose

I. Découverte de *C. paspali* par sa toxicose

En novembre 1991, nous avons été contacté par un jeune vétérinaire, F. Iceaga, récemment en fonction dans le sud des Landes (région de Saubusse), pour examen d'échantillons d'une graminée provoquant localement de graves troubles aux bovins (jeunes et adultes) et chevaux (uniquement les jeunes) pâturant dans les barthes, prairies humides des bords de l'Adour. Cette affection, uniquement automnale, était depuis longtemps connue des éleveurs et des vétérinaires sous le nom de « maladie du chiendent », sans que l'on ait su y remédier. Les symptômes se manifestent par une démarche ébrieuse, ainsi que des titubations suivies de chutes brutales, avec incapacité

temporaire à se relever. Les animaux peuvent ainsi tomber dans des fourrés, des mares, voire l'Adour et s'y noyer. Les symptômes disparaissent rapidement dès que le « chiendent », dont ils raffolent, n'est plus consommé.

Nous avions auparavant découvert ensemble le premier exemple français de toxicose à *Acremonium cœnophialum*, champignon endophyte (Clavicipitale) de la fétuque élevée responsable de symptômes semblables à l'ergotisme chez le bétail (Raynal, 1991 ; Iceaga, 1992). D'autres espèces d'*Acremonium* étant présents dans diverses graminées et synthétisant des alcaloïdes agissant uniquement sur le système nerveux (Latch, 1985), il était donc *a priori* possible que le « chiendent » landais fut porteur d'*Acremonium*.

Or cette graminée n'était autre que *Paspalum distichum* et montrait dans ses inflorescences de nombreux sclérotes caractéristiques de *C. paspali* (Fig. 1a). L'origine de la toxicose ne faisait donc aucun doute, les symptômes étant conformes à ceux décrits dans d'autres pays.

P. distichum, d'origine tropicale, a été introduit accidentellement en Europe. Il a envahi toute la moitié sud de la France : Pays Basque, Aquitaine, Vendée, bords de Loire, Camargue, etc ... Il s'installe préférentiellement le long des cours d'eaux et des étangs, dans les fossés, canaux et parcelles irriguées ou inondables (Montégut, 1976 ; Corillion, 1981 ; Maillet, 1992, communication personnelle). Notons qu'une autre espèce colonisant les milieux secs en été, *P. dilatatum*, très favorable comme on l'a vu à *C. paspali*, prolifère actuellement dans le Languedoc et la Côte d'Azur, le long des routes et dans les vignobles (Jauzein, 1995 et communication personnelle).

Remarquons enfin que Bernaux (1992, communication personnelle) avait observé en octobre dans la Crau vers les années 1960 sur *Paspalum* un stade conidien qu'il avait rapporté à *C. paspali*, mais n'avait vu aucun sclérote. Aucune autre observation, ni publication, ne furent faites à ce sujet.

II. Observations [redacted] *C. paspali*

1. *Dimensions des sclérotes*

Les sclérotes récoltés à la mi-octobre en 1991 et 1992 sont caractéristiques. Ils sont sphériques, jaunâtres, ont une surface rugueuse ou crevassée et sont solidement insérés entre les glumes des inflorescences, qu'ils écartent si leur diamètre est suffisant. Ils sont fréquemment recouverts d'une poussière ou d'une croûte noire de Dématiacées s'étant développées dans le miellat précédent leur formation. Leur diamètre, mesuré sur 100 sclérotes, est très variable : moyenne 2,7 mm, max. 4,3 mm, écart-type : 2,7 mm (Fig. 1b).

2. *Germination des sclérotes*

Nous avons, sur la récolte de 1992, entrepris de faire germer des sclérotes de dimension moyenne. Pour cela, nous les avons placés en cristallisoirs (20 sclérotes par cristallisoir) à 5°C et à l'obscurité, sur de la terre horticole tamisée et saturée d'eau, pendant 45 à 105 jours, afin de lever leur dormance. Les cristallisoirs ont ensuite été portés à 20°C sous lumière fluorescente. Les résultats sont indiqués dans le tableau 1. On constate que, dans nos conditions, une exposition préalable au froid pendant 75 jours favorise la germination des sclérotes placés ensuite à 20°C, chaque sclérote

Temps d'exposition des sclérotes à 5°C et à l'obscurité, sur terre humide	Pourcentage de sclérotes montrant des têtes périthéciales après report n jours à la lumière et à 20°C		
	n = 20 j	n = 40 j	■ = 60 j
45 j	0	5	nécrose
75 j	60	70	70
105 j	5	10	10

Tableau 1 — Germination des sclérotes de *Claviceps paspali* en conditions artificielles.

Table 1 — Germination of sclerotia of *Claviceps paspali* in artificial conditions.

produisant entre 1 et 4 têtes périthéciales (Fig. 1c). La longueur moyenne des stipes (mesurée sur 25 stipes) est de 3,7 mm (1,3 à 8,5 mm). Les têtes ont un diamètre moyen de 1,5 mm (0,8-2,0 mm). Les loges périthéciales montrent des asques et ascospores filiformes, caractéristiques du genre *Claviceps* (Fig. 1d).

Peu de renseignements sont disponibles sur les conditions de germination des sclérotes de *C. paspali*. Waterhouse (1937) signale sans donner de détails que d'abondantes germinations peuvent être obtenues en soumettant les sclérotes pendant 6 mois à des alternances de gel, de dégel et de sécheresse, et en les plaçant ensuite en serre. Kispatic & Milatovic (1958), et d'autres, indiquent que seuls les sclérotes ayant hiverné dans les conditions naturelles germent correctement.

3. *Isolement de* C. paspali

L'isolement à partir des sclérotes nécessite de les désinfecter superficiellement (trempage 10 minutes dans l'alcool à 90° et rinçage à l'eau stérile) afin d'éliminer les saprophytes. Les sclérotes, sectionnés, sont ensuite placés en boîtes de Petri sur malt-agar ou PDA, à 25°C et à la lumière. Seuls les isolements faits sur PDA ont donné des colonies de *C. paspali*, à mycélium blanc pur et à croissance lente.

L'isolement est bien plus facile à partir des ascospores projetées par les têtes périthéciales. Pour cela, des sclérotes germés sont placés à la lumière dans une boîte de Petri sur papier filtre humide, à 20°C. La boîte est fermée par un fond de boîte retourné contenant du PDA. Les ascospores projetées se fixent sur le milieu de culture et donnent rapidement des colonies pures. Notons que les captures d'ascospores ne sont possibles dans ces conditions que si la distance entre les têtes et le milieu de culture est inférieure à 10 mm, ce qui traduit la faible hauteur de leur projection, comparativement à d'autres Ascomycètes.

4. *Culture de* C. paspali

Elle peut être réalisée sur divers milieux, en boîtes de Petri. Nous avons testé 6 milieux gélosés : malt, PDA, farine d'avoine, farine de maïs, V8 juice modifié, HMG

Milieu de culture	Températures		
	15°C	20°C	25°C
Malt	33,2 A	33,0 A	33,0 A
PDA	39,7 B	34,2 C	36,0 C
Avoine	45,0 A	45,0 D	46,2 D
Maïs	43,0 A	42,0 A	43,0 A
V8-juice modifié	20,4 A	25,2 B	28,4 ■
HMG	29,6 C	41,8 C	42,2 C

Tableau 2 — Diamètres moyens (mm) de colonies de *C. paspali* âgées de 3 mois sur des milieux de culture gélosés et appréciation de la densité du mycélium aérien (A : mycélium ras, peu abondant ; B : mycélium cotonneux, moyennement abondant ; C : mycélium cotonneux, abondant ; D : mycélium cotonneux, très abondant).

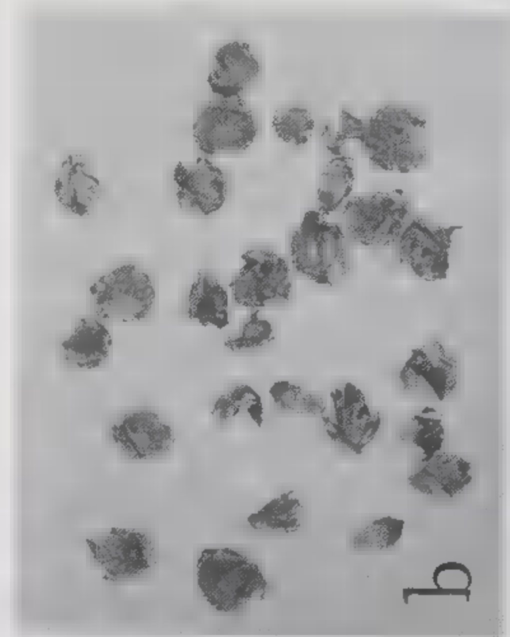
Table 2 — Mean diametra (mm) of 3 months old *C. paspali* colonies grown on agar media and estimation of the density of aerial mycelium (A : smooth, little abundant ; B : cotonny, fairly abundant ; C : cotonny, abundant ; D : cotonny, very abundant).

Figure 1

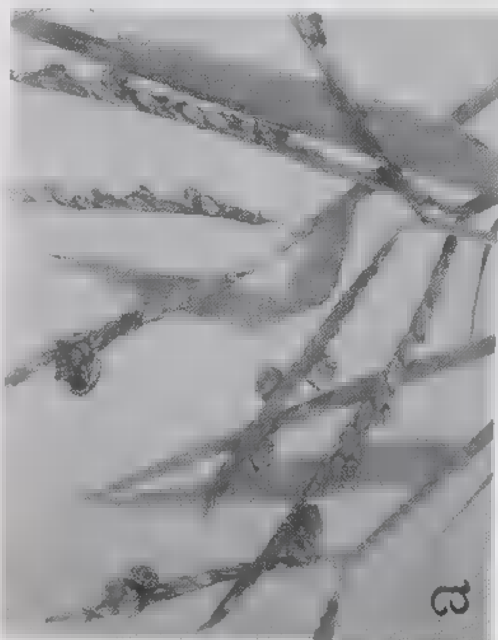
a *Paspalum distichum* porteur de sclérotes de *Claviceps paspali*.
b Sclérotes de *C. paspali*.
c Sclérotes germés de *C. paspali*.
d Loges périthéciales, asques et ascospores de *C. paspali*.

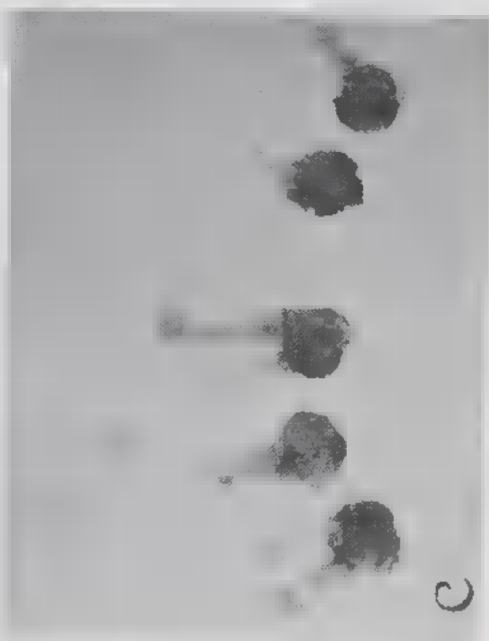
Figure 1

a *Paspalum distichum* bearing sclerotia of *Claviceps paspali*.
b Sclerotia of *C. paspali*.
c Germinated sclerotia of *C. paspali*.
d Perithecial chambers, asci and ascospores of *C. paspali*.


b


d


a


c

(extrait de levure, malt, gélose). Les cultures sont placées à la lumière à 15, 20, 25°C. Le tableau 2 donne les diamètres moyens des colonies (5 boîtes par facteur) ainsi que la notation de la densité du mycélium aérien, après 3 mois de culture. Les colonies montrent des marges irrégulières et ont une croissance lente. Leur revers est, selon les milieux, incolore (malt, maïs) ou marron foncé. Le mycélium aérien, plus ou moins abondant, est blanc pur.

5. *Essais de contamination artificielle de* P. distichum

Les essais de contamination artificielle des *Paspalum* avec *C. paspali* sont rares. Seuls sont mentionnés brièvement quelques essais avec des miellats produits naturellement (Lefebvre, 1939 ; Burton & Lefebvre, 1948).

Ne disposant pas de miellats conidiens, nous avons tenté des contaminations en utilisant un broyat fin de culture mycélienne à partir de cultures sur PDA à 25°C, âgées de 3 semaines. Un fragment de colonie de 10 × 20 mm prélevé à la marge est placé dans 5 ml d'eau stérile et broyé au broyeur Ultra Turax. Le broyat, non filtré, est additionné d'une goutte de mouillant (Tween 20).

Des plantes de *P. distichum* ont été obtenues par bouturage de tiges prélevées dans les barthes en automne 1991. Multipliées en serre, elles ont produit quelques inflorescences en janvier 1993 (floraison en jours courts), qui ont été utilisées pour les contaminations, réalisées au stade anthèse.

Sans les détacher des plantes, les inflorescences sont trempées pendant quelques minutes dans la suspension mycélienne puis sont enfermées dans des sachets en polyéthylène transparent contenant un coton humidifié. L'ensemble est conservé en serre, à une température diurne de 18-20°C, avec un éclairement de 12h/24.

Deux contaminations ont ainsi été réalisées, chacune sur 5 inflorescences. Des miellats typiques sont apparus respectivement sur 1 et 3 inflorescences, 13 jours et 6 jours après l'une et l'autre contamination. Nous n'avons cependant pas obtenu de sclérotes, sans doute en raison de températures insuffisamment élevées par la suite. Sous le climat de la Géorgie, très favorable à *C. paspali*, Lefebvre (1939) avait d'ailleurs noté, en pépinières contaminées artificiellement en été avec des miellats conidiens, que les sclérotes se forment en quantités comparativement peu élevées en automne, alors que de nombreux miellats étaient apparus auparavant. Burton & Lefebvre (1948) précisent enfin que, *sur P. notatum* (Bahia grass), les ergots ne se forment que sur les fleurs non fertilisées par du pollen. De nombreux facteurs, climatiques et biologiques, influent donc sur le cycle de *C. paspali.*

CONCLUSION

Les observations et expérimentations sur *C. paspali* sont anciennes et relativement peu nombreuses.

On ignore en particulier pratiquement tout de l'épidémiologie de la maladie sur *Paspalum*, en particulier dans le sud de l'Europe. Il est vraisemblable qu'elle se déroule différemment en zones tropicales et subtropicales d'où elle est originaire. En effet, pour que démarrent les contaminations, il faut qu'à la suite de la germination des sclérotes, les ascospores infectent les fleurs de *Paspalum* en début de floraison. Or, sous

nos climats, ces graminées ne peuvent fleurir qu'en fin d'été et en automne. Il est donc nécessaire que les sclérotes de *C. paspali* aient une germination suffisamment étalée dans le temps à partir du printemps, pour que s'initient les contaminations, relayées ensuite par la phase conidienne.

On est bien mieux renseigné sur l'ergotisme à symptômes neurologiques accompagnant la consommation des *Paspalum* contaminés. Les toxicoses importantes au plan économique se rencontrent toujours avec les espèces et variétés de *Paspalum* cultivées pour la production de fourrage, notamment avec *P. dilatatum*. En Europe, où ce type de fourrage n'est pas pour l'instant produit, les cas de toxicose rapportés sont sporadiques et uniquement dus à l'ingestion en automne de *P. distichum* porteur d'ergots. Il en est ainsi en France, Italie, Turquie et Yougoslavie.

En France, l'incidence sur les élevages du sud des Landes varie selon les années en fonction des conditions climatiques favorisant ou non la formation des ergots. Ainsi, en 1995, l'automne ayant été sec, on n'observa pas de toxicose. Par contre, en 1994, malgré la prudence des éleveurs désormais avertis, les cas d'empoisonnements furent extrêmement nombreux, à la suite de l'automne très pluvieux. Vu l'extension rapide de *P. distichum* et *P. dilatatum* dans le sud de la France, il est vraisemblable que *C. paspali* n'est plus une simple curiosité mycologique dans notre pays. Il convient donc d'être au fait de sa présence pour éviter des désagréments possibles sur le bétail, au cas où il consommerait des *Paspalum* sauvages ou même éventuellement cultivés.

RÉFÉRENCES

ALDERMAN S. C., 1993 — Aerobiology of *Claviceps purpurea* in Kentucky bluegrass. *Plant Disease* 77 : 1045-1049.

ALDERMAN S. C., CHURCHILL D. B. & BILSLAND D. M., 1993 — A vacuum collection and seed separation technique for enumeration of sclerotia of *Claviceps purpurea* in perennial ryegrass fields. *Plant Disease* 7 : 1020-1022.

ANONYME, 1957 — Ergot of *Paspalum*. *Agricultural Gazette of New South Wales* 68 : 92-93.

BROWN H. B. & RANK E. M., 1915 — Forage poisoning due to *Claviceps paspali* on *Paspalum*. *Mississippi agricultural experiment station. Technical Bulletin*, n° 6 : 3-35.

BURTON G. W. & LEFEBVRE C. L., 1948 — Ergot and sterility in Bahia grass. *Phytopathology* 38 : 556-559.

CAMPBELL W. P., 1957 — Studies on ergot infection in gramineous hosts. *Canadian Journal of Botany* 35 : 315-320.

CHASTAIN T. G., 1992 — Relationship of ergot to Kentucky bluegrass seed production and quality. *Journal of Applied seed production* 10 : 7-10.

COLE R. J., DORNER J. W., LANSDEN J. A., COX R. H., PAPE C., CUNFER B., NICHOLSON S. S. & BEDELL D. M., 1977 — *Paspalum* staggers : isolation and identification of tremorgenic metabolites from sclerotia of *Claviceps paspali*. *Journal of agricultural and food chemistry* 25 : 1197-1201.

COLE R.J. & DORNER J.W., 1986 — Role of fungal tremorgens in animal disease. *In : Mycotoxins and Phytotoxins*, Elsevier, pp. 501-511.

CORILLION R., 1981 — *Flore et végétation de la vallée de la Loire (cours occidental : de l'Orléanais à l'estuaire)*. Ed. Jouve, p. 648.

FREDERICKSON D. E., MANTLE P. G. & DE MOLLIANO W. A. J., 1989 — Secondary conidiation of *Sphacelia sorghi* on sorghum, a novel factor in epidemiology of ergot disease. *Mycological Research* 93 : 497-502.

GRASSO V., 1948 — Una nuova specie di *Claviceps* in Italia. *Nuovo giornale botanico italiano* N.S. 55 : 580-581.

GRAYSON A. R., 1941 — *Paspalum* ergotism in cattle. *Journal of the department of agriculture, Victoria* 34 : 441-442.

GUILHON J., 1955 — L'ergotisme des animaux domestiques. *Revue de pathologie générale et comparée* 673 : 1467-1478.

HINDMARSH W. L. & HART L., 1938 — Poisoning of cattle by ergotised *Paspalum*. *Veterinary research reporter of New South Wales* 1937, 7 : 78-88.

ICEAGA F., 1992 — *Les toxicoses du bétail dues aux* Acremonium, *champignons endophytes de la fétuque élevée et du ray-grass anglais*. Thèse de Doctorat Vétérinaire. ENVT, 67 p.

JAUZEIN P., 1995 — *Flore des champs cultivés*. Ed INRA-SOPRA, p. 763.

KISPATIC J. & MILATOVIC I., 1958 — Glavnica (*Claviceps paspali* S. et H.) na divljem troskotu u doline neretve. *Acta Botanica Croatica* 17 : 99-112. (Résumé français pp. 109-111).

KUNTAY S. & BREMER H., 1947 — Bir çayir otunda eveil hayvanlari zehirleyen mantar. [A parasitic fungus in pasture grass poisoning livestock]. *Ziraat fakultesi dergisi, Ege universitesi* 8, 86 : 4-6.

LANGDON R. F. N., 1963 — Paspalum ergot in Australia. *Australian journal of science* 26 : 55.

LATCH G. C. M., 1985 — Endophytes and ryegrass staggers. *In* : *Trichothecenes and others mycotoxins*. Ed. J. Wiley and Sons : 135-140.

LEFEBVRE C. L., 1939 — Ergot of *Paspalum*. *Phytopathology* 29 : 365-367.

LUTTRELL E. S., 1980 — Host-parasite relationships and development of the ergot sclerotium in *Claviceps purpurea*. *Canadian journal of botany* 58 : 942-958.

Mc LAREN N. W., 1992 — Quantifying resistance of sorghum genotypes to the sugary disease pathogen (*Claviceps africana*). *Plant Disease* 76 : 986-988.

MONTEGUT J., 1983 — *Pérennes et vivaces nuisibles en agriculture*. Ed. SECN, pp. 152-155.

NEILL J. C., 1941 — Ergot. *New Zealand journal of science and technology* A, 23 / 131-137.

NOBLE R. J., 1936 — An epiphytotic of ergot in *Paspalum* in New South Wales. *Journal of the australian institute of agricultural science* 2 : 76-78.

PARRIS G. K. & MOORE B., 1961 — Tentative insect vectors of *Claviceps paspali* of Dallis grass in Mississippi. *Plant disease reporter* 45 : 530-533.

PURCHASE I. F. H., 1974 — *Claviceps purpurea*, ergotism. *In* : *Mycotoxins*. Ed. Elsevier. pp 69-96.

RAYNAL G., 1991 — Observations françaises sur les *Acremonium*, champignons endophytes des graminées fourragères. *Fourrages* 126 : 225-237.

RAYNAL G., 1992 — Les ergots des graminées : rappels et nouveauté pour la France. *Phytoma-LDV* 444 : 67-69.

RIET-CORREA F., MENDEZ M. C., SCHILD A. L., BERGAMO P. N. & FLORES W. N., 1988 — Agalactica, reproductive problems and neonatal mortality in horses associated with the ingestion of *Claviceps purpurea*. *Australian Veterinary Journal* 65 : 192-193.

ROTHLIN E. & FANCHAMPS A., 1955 — Quelques développements récents de la pharmacologie de l'ergot du seigle. *Revue de pathologie générale et comparée* 673 : 1427-1466.

SIBILIA C., 1962 — Rassegna dei casi fitopatologici pui notevoli osservati nel 1961. *Bollettino della stazione di patologia vegetale di Roma*. Ser. 3. 19 : 157-177.

SIMPSON C. F. & WEST E., 1952 — Ergot poisoning in cattle. *University of Florida agricultural experiment station circular S. 43* (6 pp).

SMITH J. D., JACKSON N. & WOOLHOUSE A. R. — 1989. *Fungal diseases of amenity turf grasses*. Ed. E. & F.N. SPON, 3rd Ed., pp. 205-207.

SPRAGUE R., 1950. *Diseases of cereals and grasses in North America (Fungi, except smuts and rusts)*. The Ronald Press Company, N.Y. pp. 60-67.

STEVENS F.L. & HALL J.G., 1910 — Three interesting species of *Claviceps*. *Botanical Gazette* 50 : 460-463.

TONOLO A., 1965 - Sul probabile significato della presenza di alcaloidi negli sclerozi naturali di *Claviceps paspali* Stev. et Hall. *Giornale botanico italiano* 72 : 27-30.
WATERHOUSE W. L., 1937 — A note on the ascigerous stage *of Claviceps paspali* S. et H. in Australie. *Proceedings of the linnean society of New South Wales* 62 : 377. C

ENTERIDIUM RUBIGINOSUM sp. nov., A NEW MYXOMYCETE FROM SPAIN.

E. GRÀCIA[1] C. ILLANA[2] & G. MORENO[2]

[1] Dpto. Biología Vegetal. Facultad de Biología. Universidad de Barcelona. Avda. Diagonal, 645. 08028. Barcelona. Spain.
[2] Dpto. Biología Vegetal. Facultad de Ciencias. Universidad de Alcalá de Henares, 28871 Madrid, Spain.

ABSTRACT — *Enteridium rubiginosum*, a new species from Spain, is described and illustrated by SEM and LM photographs, and compared to related species.

KEY WORDS — *Enteridium rubiginosum*, *Myxomycetes*, Taxonomy.

MATERIAL AND METHODS

Studies of spores by scanning electron microscopy (SEM) were made with a Zeiss-DSM 950. Light microscopy (LM) was performed with a Nikon Labophot microscope equipped with an automatic photographic system. Samples for these studies were mounted in Hoyer's medium.

The material of *Enteridium rubiginosum*, described below is conserved in the herbarium of the Universidad de Alcalá (AH), and in the private herbarium of E. Gràcia (EGB) kept of the Faculty of Science of the University of Barcelona.

RESULTS

***Enteridium rubiginosum* Gràcia, Illana & Moreno, sp. nov. (Figs. 1-2)**

Etymology: *Rubiginosum*, by the colour of the fructifications.

Latin diagnose: *Aethalium pulviniforme vel elongatus*, 5-50 *mm long*., 4-12 *mm latus, applanatus. Peridium obscure fusco-brunneus, coriaceus, rugosus, areolatus, irregulariter dehiscentibus per fissuris. Pseudocapillitium filamentosus, reticulum efformantibus. Sporis in aggregatis castaneo-ferrugineis. Capillitium nodulis angustis vel fila* 3-30 *µm latus, flavidae rugosae. Sporis* 10-12 (13) *µm diam., liberis, globosis, spinosis, flavidis.*

Holotypus: Hispaniae: Islas Canarias, La Gomera, Vallehermoso, Pinar de Argumame, Jardín de "Las Creces", *ad truncis ramulisque Eucalypti*, 27.VIII.1977, *leg*. E. Gràcia *et* M. E. Pérez-Bonfils, *in Herb*.**AH 18705** *conservatus est; isotypus* EGB 5785.

Collections examined: *Enteridium rubiginosum*. SPAIN: Pontevedra, Cobres, 20 above sea level, on wood of *Eucalyptus* sp., 27-VIII-1977, *leg*. E. Gràcia, EGB 330. Canary Islands, La Gomera, Vallehermoso, Pine grove of Argumame, Jardín de "Las Creces", on wood, branches and bark of *Eucalyptus* sp., *leg*. E. Gràcia y M. E. Pérez-Bonfils, EGB 5778, 5781, 5787, 5789, 5797, AH 18705 Holotypus (EGB 5785 *Isotypus*).

Other collections examined: *Enteridium simulans*. AUSTRIA: Nowotny 1102, 15-X-1983. THE NETHERLANDS: Nannenga-Bremekamp 5633, 20-VIII-1963.

Aethalia flatened, variable in size and shape, pulvinate discoid to elongate, 0,5-5 cm long. and 0,4-1,2 cm broad. Peridium, rusty brown to brown-mahogany, coriaceous, roughened and dividided in irregular areoles, forming a tessellate cortex (strongly marked on the internal face of the peridium). Dehiscence by irregular breaking of the cortex. Hypothallus with the same colour and areolate structure as the peridium, not protruding outside the aethalium. Pseudocapillitium consisting of a network of anastomosing strands, attached to the base and in part weakly to the cortex, with some free ends. Spores in mass ferrugineous-brown.

Peridium in transmitted light dark brown, with polygonal plates enclosed by ridges on the internal side, 0.3-0.5 (1) mm in diam. Pseudocapillitium consisting of branched strands (3-30 µm wide), surface rugose, yellow. Spores, 10-12 (13) µm diam., free, globose, warted, pale yellow. S.E.M. shows a spore ornamentation of irregular warts.

Remarks: *Enteridium rubiginosum* strongly resembles some species of the genus *Dictydiaethalium* because of its peridium of polygonal areoles, which are very pronounced on the internal surface in transmitted light. It differs by its irregular dehiscence, and the lack of breaking of cortex into individual caps with strands of pseudocapillitium. In *Dicytidiaethaelium*, the pseudocapillitium consists of strands which are firmly attached to the margin of the caps, while in *E. rubiginosum* it is a network of anastomosed plates filling completely the aethalium.

The genus *Enteridium* Ehrenb., comprises nine taxa (Yamamoto, 1988). Five of them have reticulate spores and are therefore unlikely to be confused with *E. rubiginosum*, and four have spinose non-reticulate spores:*E. aureum* (Nann.-Brem.) Farr, *E. liceoides* (Lister) G. Lister, *E. olivaceum* Ehrenb. and *E. simulans* Rostaf. The species with non-reticulate spores differ from *Enteridium rubiginosum* by several features. *E. aureum* has small aethalia (4 mm long and 1,2 mm wide) and a bright yellow colour. *E. liceoides* has small vermiforms aethalia (1-10 mm long and about 0,5 mm wide), with scanty pseudocapillitium, and clustered spores. *E. olivaceum* has solitary olive-brown, pulvinate, aethalia, 1-5 mm diam., and spores in clusters of 5-25.

Enteridium simulans Rost. was included in *E. olivaceum* by Lister (1925) and by Martin & Alexopoulos (1969) and later segregated from *E. olivaceum* as a variety by Nannenga-Bremekamp (1973). It differs clearly from our new species, by the olive spores, the peridium slightly or not areolate and by its scanty capillitium, which is more strand-like. The spore ornamentation and the size [9-14 (15) µm diam.] however are similar (Fig. 3).

Enteridium rubiginosum is characterized by the following distinctive features: discoid to elongate aethalia, spores ferruginous-brown in mass and strongly areolate peridium (as in a *Dictydiaethalium*). It has been recorded several times, which indicates that it is worthy of recognition.

ACKNOWLEDGMENTS

We wish to express our gratitude to Mrs. Nannenga-Bremekamp for the revision and scientific comments and to Mr. A. Granada for the latin diagnosis. We also thank Mr. J.A. Pérez for his unvaluable help with the S.E.M. To Mr. Nowotny and Mrs. N.-B. for sending *E. simulans* from their herbarium. This paper has been partially supported by the Research Project DGICYT PB 91-0165.

REFERENCES

LISTER A., 1925, 2a. reimp. 1972 — *A monograph of the Mycetozoa*. Printed by order of the Trustees of the British Museum. 296 pp.

MARTIN G. W. & Alexopoulos C. J., 1969 — *The Myxomycetes*. University of Iowa Press. Iowa. 560 pp.

NANNENGA-BREMEKAMP N. E., 1973 — Notes on Myxomycetes XIX. *Proceedings, Koninklijke Nederlandse Akademie van Wetenschappen. Series C* 76: 476-488.

NEUBERT H., NOWOTNY W. & BAUMANN K., 1993 — *Die Myxomyceten*. Karlheinz Baumann Verlag, Gomaringen. 343 pp.

YAMAMOTO Y., 1988 — *Index Myxomycetorum Japonicorum*. Publ. y the author. 133 pp.

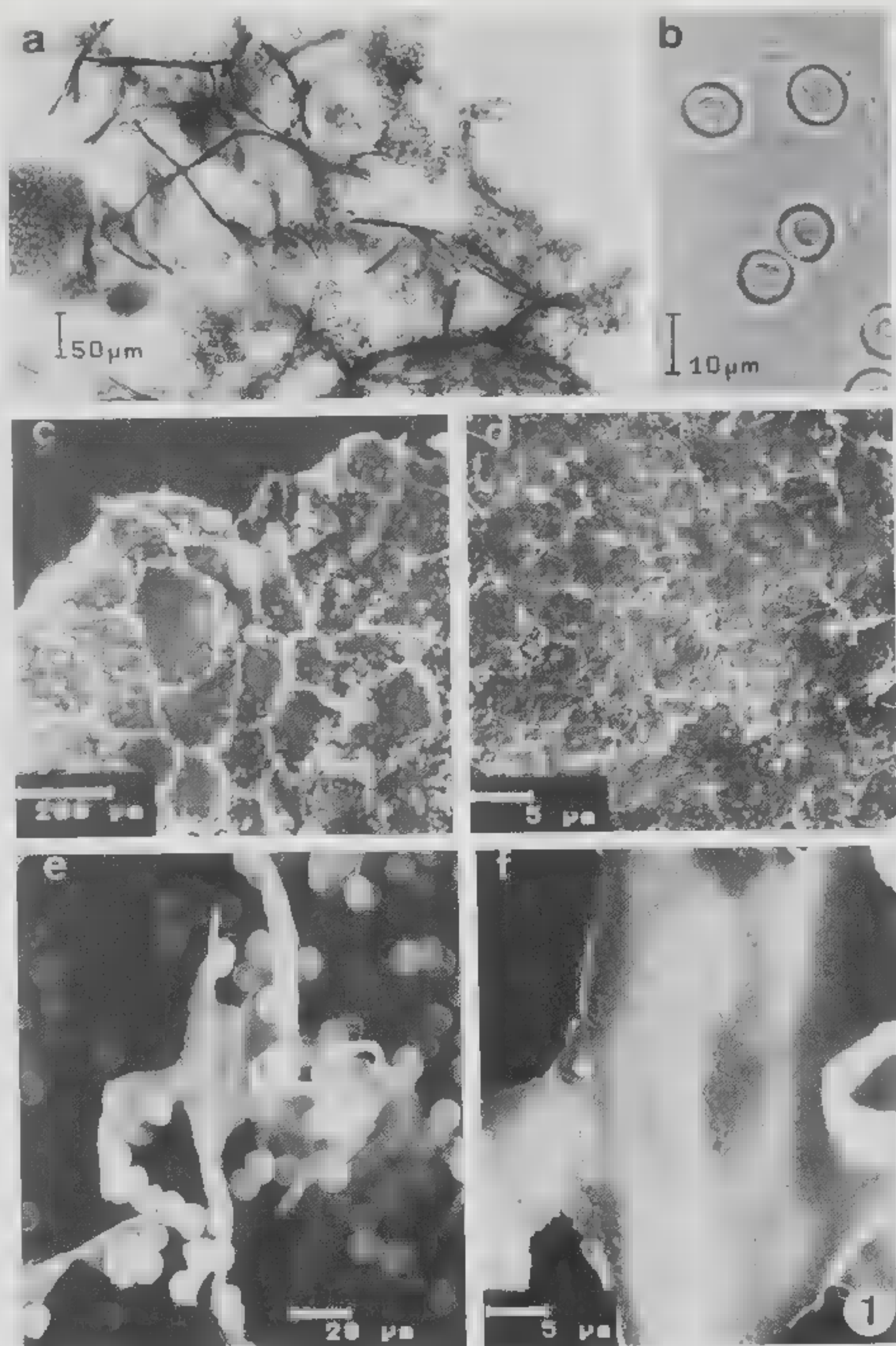


Fig. 1.- *Enteridium rubiginosum* (*Holotypus*). a: capillitium (LM). b: spores (LM). c-d: internal areolate side of the peridium (SEM). e-f: capillitium (S.E.M.).

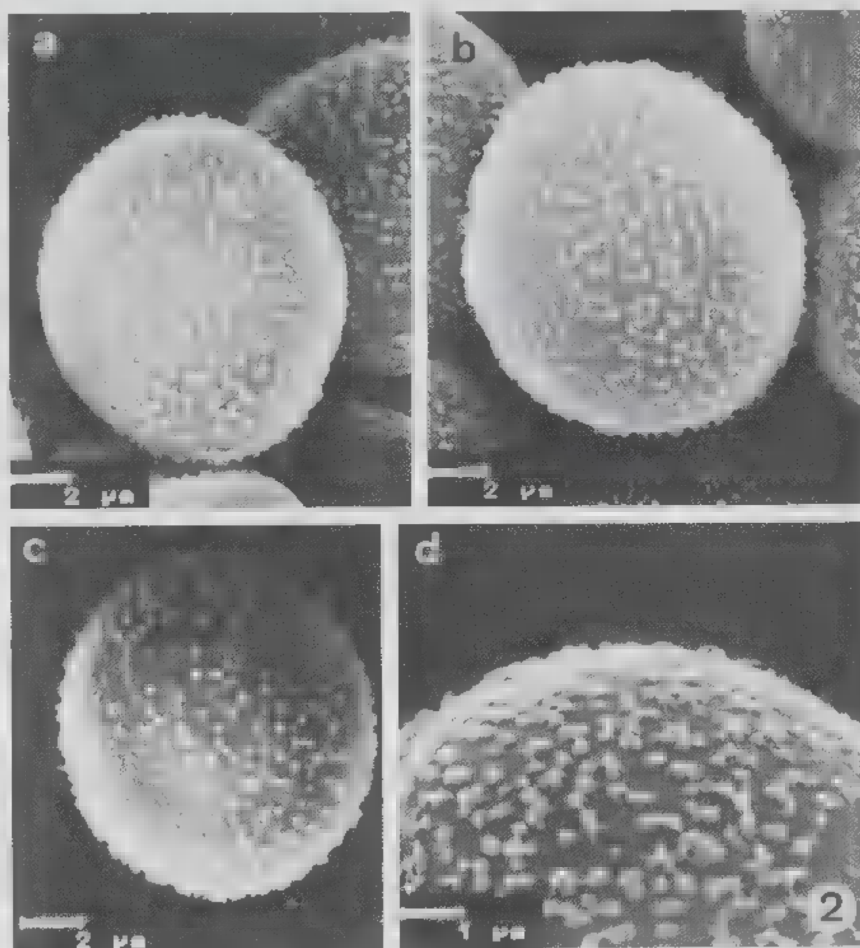


Fig. 2. — *Enteridium rubiginosum* (*Holotypus*). a-c: spores (S.E.M.). d: detail ornamentation sporal (S.E.M.).

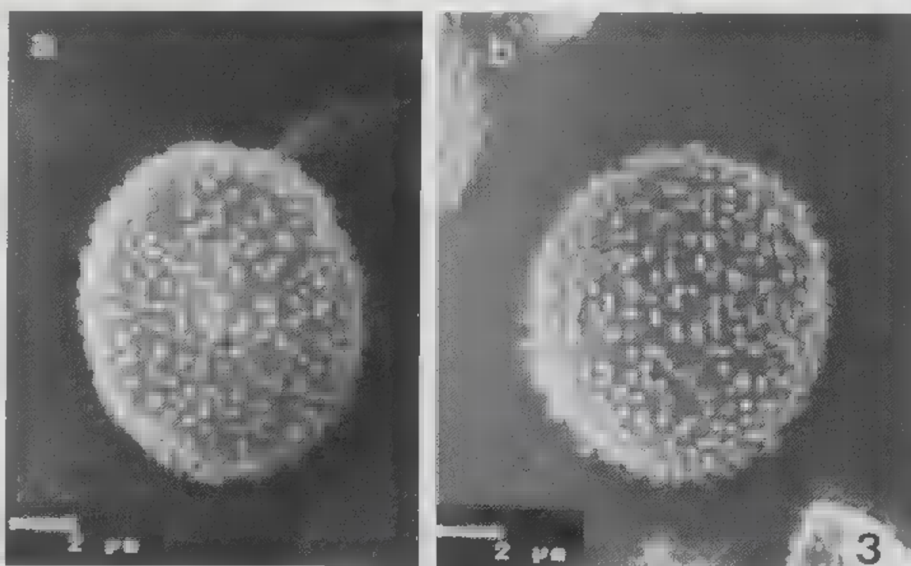


Fig. 3. — *Enteridium simulans*. a (Nowotny 1102): spore (S.E.M.). b (Nannenga-Bremekamp, 5633): spore (S.E.M.).

ISOLATION OF FUNGI FROM HUMAN HAIR SAMPLES COLLECTED IN EL-BAHRIN AND THE ANTIFUNGAL ACTIVITY OF VARIOUS SHAMPOOS

A.H.M. El-SAID

Botany Department, Faculty of Science, Qena University, Egypt.

ABSTRACT -- Twenty-eight species and 3 varieties representing 10 genera of keratinophilic and saprophytic fungi were isolated from 25 healthy human hair samples collected from El-Bahrin on two isolation media. Members of *Aspergillus*, *Penicillium* and *Chrysosporium* were the most predominant on the hair samples.

The antifungal effect of twelve kinds of shampoos were tested on 10 strains of keratinophilic and saprophytic fungi. Eleven of these shampoos were found to be effective against all the tested fungi. Keratinophilic fungi were more sensitive than saprophytic fungi.

KEY WORDS: Keratinophilic fungi, saprophytic fungi, antimycotic activity shampoo.

INTRODUCTION

The hair of human are contaminated by numerous fungi, some of which are apparently opportunistic pathogens or allergens. There are a few studies about anthropophilic dermatophytes in healthy persons (Moharram *et al.*, 1988; Zaror & Aliaga, 1990). This may be due to the fact that the fungus presence in some carriers is non-apparent, the methods of detection have not been appropriate or that both human and lower animals have an innate resistance to invasion by these fungi (Zaror & Aliaga, 1990). The presence of anthropophilic dermatophytes in healthy persons makes it necessary to continue the study of these fungi for a better knowledge of their life-cycle and ecology and for an adequate control by preventive measures and/or therapeutic action, when necessery.

The present study was carried out in order to detect dermatophytes, keratinophilic and saprophytic fungi in the hair of healthy persons from El-Bahrin. Also, the antifungal activity of some cosmetics, shampoos and oils on common fungi was studied.

MATERIALS AND METHODS

Twenty-five samples of human hair (25-40 years old) were collected from healthy persons in El-Bahrin by using sterile scissor. These samples were placed in sterile clean plastic bags and transferred immediately to the laboratory to screen for their fungal contents as follows:

Keratinophilic fungi:

These fungi were isolated by using a soil hair-baiting technique. The sandy-clay soil was double sterilized by autoclaving at 120°C for 30 min. The hair samples were placed on the surface of the sterile soil moistened with sterile distilled water (25-40 % moisture content) in plates (2 plates for each sample). The plates were incubated at room temperature for 10 weeks and remoistened whenever necessary during the incubation time. After incubation period the moulds which appeared on the bait hairs were transferred to the surface of plates containing sabouraud's dextrose agar medium (Moss & McQuown, 1969) supplemented with cycloheximide (0.05 mg/ml) and chloramphenicol (40 units). The plates were incubated at 25°C for 2 weeks and the developing fungi were identified (Carmichael, 1962; Rohd & Hartmann, 1980; Van Oorschot, 1980) and counted per 10 hairs in each sample. The relative importance values (RIV) were calculated for each fungal species (Shearer & Webster, 1985; Ali-Shtayeh *et al.*, 1988).

Saprophytic fungi:

Saprophytic fungi associated with human hairs were isolated by using the dilution-plate method (Johnson & Curl, 1972). Two g of hair sample is placed in 250 ml Erlenmeyer flask. Sterile distilled water is add to the hair samples so that a total volume of 200 ml is reached. The flask containing the suspension is shaken on a mechanical shaker for 5 min. Ten ml of this suspension are immediately drawn (while in motion) using sterile Menzies (1957) dipper and tranferred immediately through a known volume of sterile water blank untill the desired final dilution is reached which supports a total of about 25-40 colonies per dish. The suspension is shaken by hand for few minutes. One ml of the desired dilution is transferred aseptically into a sterile petri-dishes and 12 to 15 ml of an appropriate agar medium, cooled to just above the solidifying temperature, are added to dishes. The dishes are rotated by hand in a broad swirling motion. So that the suspension is dispersed in the agar. Modified Czapek's agar medium, in which 3% sucrose was substituted with 1% glucose, was used. Two plates were used for each hair sample and incubated at 28° C for 1-2 weeks. The appearing fungi were counted, identified (purely morphological, based on macro — and microscopic characteristics, Raper & Fennell, 1965; Pitt, 1985; Domsch *et al.*, 1980) and calculated per g hair.

Antimycotic activity of different types of cosmetics:

Twelve different kinds of creams, shampoos and oil, commonly used for cleaning the human hairs were tested for their antifungal activity. Herbal essence with natural protein, Aloe Eva, Polytar, Oil, Lactuel vitamin care, Panthenol, Glemo

coconut, Palm olive and Egg lactuel were manufactured in Egypt; Pert plus in Switzerland; Soft in Germany; and Selsun blue in the U.S.A. The test organisms were cultured on 20 ml sabouraud's dextrose agar medium. Cultures were incubated at 28°C for 7 days. Using sterile cork borer 10 mm diameter, 3 discs were cut to inoculate 50 ml sterile liquid water (in 250 ml Erlenmeyer conical flasks) to obtain the spore suspension. Twenty ml of sterilized sabouraud's dextrose agar medium were poured into a sterilized petri-dish containing 1 ml spore suspension of each test organism. After hardening 3 discs (3 mm) of filter paper (Whatman No. 3), fully saturated individually by the tested cosmetic, were placed on the agar surface of the plates. On another plates, three discs without cosmetic were placed on the agar surface as a control. The plates were incubated for 1-2 weeks at 28°C. The diameter of the inhibition zone around the disc was measured using the ruler.

RESULTS AND DISCUSSION

Keratinophilic fungi:

Six species belonging to 2 genera were identified from the hair samples using the soil hair-baiting technique on sabouraud's dextrose agar medium at 25° C (Table 1). Most of these fungi are already known as colonizers of bait hair (Filipello-Marchisio & Luppi Mosca, 1982; Polonelli *et al.* 1982; Mercantini *et al.*, 1983, 1986; Ali-Shtayeh & Arada, 1985; Nigam & Kushwaha, 1989; Roig *et al.*, 1989).

Chrysosporium was the first keratinophilic fungi isolated from the persons hair and were present in 96% of the hair represented 86.6% of total isolates with RIV of 182.6. De Vroey (1976) mentioned that *chrysosporium* species are occasionally isolated in the clinical laboratory from skin, hair or nails. From the genus, 4 species were identified of which *C. tropicum* and *C. keratinophilum* were prevalent. They occurred in 64% and 52% of the samples comprising 34.9% and 23.3% of total fungi, respectively. Moharram *et al.* (1988) isolated the above two species from human hair, in Egypt, in low (21%) and rare (5%) frequency. Filipello-Marchisio (1986) studied the keratinolytic ability of some fungal isolates and showed that *C. tropicum* and *C. keratinophilum* came among the species which were the most active keratinolytically. These two species were also, predominant in floors of Roman primary and secondary schools (Mercantini *et al.*, 1983, 1986) and the sands of a box for childrens play (Filipello-Marchisio & Luppi Mosca, 1982). *C. asperatum* (5.8% of the isolates) and *C. indicum* (6.4%) were less common (Table 1).

Trichophyton (2 species) was isolated in rare frequency of occurrence. It was encountered in 3 samples (out of 29) contributing 13.4% of total isolates which have RIV of 25.3. Of the genus *T. rubrum* (4.7% of total isolates) and *T. terrestre* (8.7%) were isolated (Table 1). Mariat *et al.* (1967) reported that 15% of African immigrant population in the France were carriers of scalp dermatophytes. They isolated *T. rubrum* from 3% of the samples. But, Lopez-Martinez & Rivera Liona (1984) isolated *T. rubrum* from 28 % of the persons. While Sinski & Kelley (1991) isolated *T. terrestre* in 4 times from 45 cities and 1 state in the USA.

Genera & species	TI	NCI & OR	RIV
Chrysosporium	149	24H	182.6
C.asperatum Carmichael	10	2R	13.8
C.indicum (Randhawa & Sandhu) Gary	11	5L	26.3
C.keratinophilum (D.Frey) Carmichael	40	13H	75.2
C.tropicum Carmichael	60	16H	98.8
Chrysosporium sp.	28	6L	40.2
Trichophyton	23	3R	25.3
T. rubrum (Castellani) Sabouraud	8	2R	12.6
T. terrestre Durie & Frey	15	2R	16.7
Total isolates	172		
Number of genera	2		
Number of species	6		

Table 1: Total isolates (T I, calculated per 250 hair fragments in all samples), number of cases of isolation (NCI, out of 25), occurrence remarks (OR) and relative importance values (RIV) of keratinophilic fungi recovered from 25 human hair samples at 25°C .
Occurrence remarks (OR): H = high occurrence, between 13-25 cases (out of 25); M = moderate occurrence, between 7-12 cases; L = low occurrence, between 4-6 cases; R = rare occurrence, between 1-3 cases

Saprophytic fungi:

A total of 10576 colonies representing twenty-two species and 3 varieties in addition to 8 genera were isolated from human hair samples on plates of 1% glucose-Czapek's agar at 28°C. Many of these fungi were isolated from human skin of patients with no evidence of clinical lesions (Lopez-Martinez *et al.*, 1978).

Aspergillus was the more common genus, found in all samples having 77.9% of total isolates. It was represented by 9 species and 1 variety of which *A. flavus*, *A. fumigatus* and *A. niger* were of highest occurrence. They emerged in 100, 100 and 84% of the samples matching 30.2, 22.9 and 14.2% of total fungi, respectively. *A. ochraceus* (2.8% of total fungi) was moderately encountered and *A. terreus* (4.4%) was of low incidence. The remaining *Aspergillus* species were rare on human hair (Table 2). These results were greatly similar to those obtained by Moharram *et al.* (1988). They noticed that *Aspergillus* (10 species + 1 variety) was the first most dominant fungi on human hairs in Egypt. Also, Arreeza & Urrestarazu (1988) isolated *A. niger* and *A. terreus* from patients with a possible diagnosis of onychomycosis.

Penicillium (6 species) and *Emericella* (1 + 2 varieties) were not as common as the *Aspergillus*. They were isolated in high and moderate occurrence, encountered in 72 and 44% of the hair and 11.3 and 6.8% of total fungi, respectively. From the two genera *P. chrysogenum*, *P. oxalicum*, *E. nidulans* and *E. nidulans* var. *lata* were the most prevalent species. The remaining *Penicillium* and *Emericella* species were less frequent (Table 2). Aho *et al.* (1990) showed that *Penicillium* species known to infect humans and *P. chrysogenum*, *P. citrinum* and *P. purpurogenum* cause penicilliosis. Also, they noticed that, despite the wide spread distribution and prevalence of the 150 to 214 (Pitt,

Genera & species	ATC	% C	NCI & OR
Alternaria alternata (Fries) Keissler	93	0.9	3R
Aspergillus	8235	77.9	25H
A. aureolatus Munt. , Cvet. & Bata	106	1.1	3R
A. flavus Link	3193	30.2	25H
A. fumigatus Fresenius	2425	22.9	25H
A. niger Van Tieghem	1500	14.2	21H
A. ochraceus Wilhelm	300	2.8	7M
A. sydowii (Bain.& Sart.) Thom & Church	56	0.5	2R
A. terreus Thom	462	4.4	4L
A. terreus var. *africans* Fennell & Raper	87	0.8	2R
A. ustus Fennell & Raper	50	0.5	1R
A. versicolor (Vuill.) Tiraboschi	56	0.5	2R
Chaetomium globosum Kunze	87	0.8	2R
Emericella	716	6.8	11M
E. nidulans (Eidam) Vuillemin	231	2.2	7M
E. nidulans var. *dentata* Sandhu & Sandhu	143	1.4	3R
E. nidulans var. *lata* (Thom & Raper) Subram.	342	3.2	7M
Mucor circinelloides Van Tieghem	31	0.3	1R
Penicillium	1191	11.3	18H
P. aurantiogriseum Dierckx	93	0.9	2R
P. chrysogenum Thom	512	4.8	12M
P. citrinum Thom	112	1.1	3R
P. corylophilum Dierckx	87	0.8	3R
P. oxalicum Currie & Thom	225	2.1	7M
P. puberulum Bainier	162	1.6	4L
Rhizopus stolonifer (Ehrenb.) Lind.	37	0.3	1R
Sterile mycelia (white & dark colour)	112	1.1	3R
Ulocladium	74	0.6	1R
U. botrytis Preuss	37	0.3	1R
U. chartarum (Preuss) Simmons	37	0.3	1R
Gross total count	10576		
Number of genera	8		
Number of species	22+ 3 var.		

Table 2: Average total count (ATC, calculated per [illegible] hair), percentage count (% C calculated per total fungi), number of cases of isolation (NCI, out of 25 samples) and occurrence remarks (OR) of fungal genera and species recovered from 5 human hair samples on 1% glucose-Czapek's agar at 28°C.

Occurrence remarks (OR): H =high occurrence, from 13-25 (out of 25); M= moderate occurrence, from 7-12; L= low occurrence, from 4-6; R= rare occurrence, from1-3 cases.

Fungus	Herbal essence with natural protein	Soft	AloeEva	Polytar	Pert plus	Oil	Lactuel vitamin care	Panthenol	Glemo coconut	Palmolive	Egg lactuel	Selsun blue
Aspergillus flavus	15	33	23	20	21	20	19	13	9	11	13	22
A. fumigatus	20	31	22	21	28	24	24	20	22	16	19	20
A. niger	17	26	23	20	22	24	25	16	11	12	16	18
Chrysosporium asperatum	36	0	42	40	44	46	30	41	35	35	34	47
C. indicum	35	0	56	44	48	45	50	39	37	43	49	61
C. keratinophilum	31	0	45	37	50	44	34	24	32	33	24	34
C. tropicum	33	0	40	38	36	41	31	27	32	29	25	49
Chrysosporium sp.	44	0	48	39	40	42	41	34	35	37	38	28
Trichophyton rubrum	36	0	34	35	27	33	32	28	30	31	34	40
T. terrestre	37	0	41	37	38	44	34	33	31	31	27	35

Table 3: Diameter (in mm) of the inhibition zone induced by the different types of cosmetics on some selected isolates of keratinophilic and saprophytic fungi.

1979; Ramirez, 1982) recognized species of *Penicillium*,only eight have been unequivocally known as agents of infections disease.

The remaining 6 species were encountered in rare occurrence and were representing collectivelly about 2.9% of total fungi (Table 2).

Effect of shampoos on fungi:

The fungistatic nature of shampoos and oils was shown in table (3). The results indicated that eleven, out of twelve, of shampoo proved to be effective against all the tested fungi. Saprophytic fungi represented by *Aspergillus flavus*, *A. fumigatus* and *A. niger* were the most resistance fungi to shampoos while, the keratinophilic fungi represented by *Chrysosporium* and *Trichophyton* species were sensitive. This was in agreament with the results obtainted by Moharram *et al.* (1988). They reported that *Chrysosporium* isolates were the most sensitive fungi to shampoos. Aloe eva, pert plus and lacutel vitamin care were highly effective against all test organisms. The shampoo glemo coconut and palmolive exhibited moderate suppressive effect against the majority isolates and were weak against few isolates. Soft shampoo showed no inhibition effect against keratinophilic fungi and weak against saprophytic one. The remaining types of creams and oils showed inconsistance effect on the fungi tested (Table 3). In this respect, Garg *et al.* (1985) reported that linoleic acid completely suppressed the growth of *Trichophyton ajelloi*, *Ctenomyces serratus* and *Microsporum gypseum*. Also, Moharram *et al* (1988) noticed that among twelve types of creams, three of them were highly effective against all fungi tested (Lanolin, Relax bath and herb-green). But, the shampoo balsam exhibited weak suppressive effect against few isolates and was inactive against the majority of isolates.

Acknowledgement

The auther is deeply indebted to Prof. S. I. I. Abdel-Hafez (Professor of Microbiology, Botany Department, Assiut University) for his kind help.

REFERENCES

AHO R., WESTERLING B., AJELLO L., PADHYE A. A. & SAMSON R. A., 1990 — Avian Penicilliosis caused by *Penicillium griseofulvum* in a captive toucanet. *Journal of medical and veterinary mycology* 28: 349-354.

ALI-SHTAYEH M. S. & ARDA H. M., 1985 — Incidence of dermatophytosis in Jordan with special reference to tinea capitis. *Mycopathologia* 92: 59-62.

ALI-SHTAYEH M. S., ARDA H. M., HASSOUNA M. & SHAHEEN S. F., 1988 — Keratinophilic fungi on the hair of goats from the West Bank of Jordan. *Mycopathologia* 104: 103-108.

ARREAZA F. & URRESTARAZU M. I., 1988 — Study of the mycotic and bacterial flora in patients with nail lesions. *Medicina cutanea Ibero-Latino-Americana* 16: 285-290.

CARMICHAEL J. W., 1962 — *Chrysosporium* and some other Aleruiosporic Hypomycetes. *Canadian Journal of Botany* 40: 1137-1172 .

DE VROEY C., 1976 — Ascomycetes isolated from skin lesions in man. *Bulletin de la société française de mycologie médicale* 5: 161-164.

DOMSCH K. H., GAMS W. & ANDERSON T., 1980 — *Compendium of soil fungi*, Academic Press, London. 859p.

FILIPELLO-MARCHISIO V. & LUPPI MOSCA A. M., 1982 — Mycological analysis of the sands of a box for children's play. *Mycopathologia* 80: 43-54.

FILIPELLO-MARCHISIO V., 1986 — Keratinolytic and keratinophilic fungi of children's sandpits in the city of Turan. *Mycopathologia* 94: 163-172.

GARG A. P., SMITH S. N. & PUGH J. F., 1985 — Inhibition of growth of keratinophilic fungi by oils and fatty acids. *Transaction of the british mycological society* 85: 367-370.

JOHNSON L. F. & CURL E. A., 1972 — *Methods for research on ecology of soil-borne pathogen.* Burgess Publ. Co. Minneapolis: 247.

LOPEZ-MARTINEZ R., MARIAT F. & DOMINGUEZ L., 1978 — Aistamiento de dermatofitos de piel calbelluda sana. *Boletin de la sociedad méxicana de micologia* 12: 103-109.

LOPEZ-MARTINEZ R. & RIVERA LLONA M., 1984 — Investigation de dermatofitos en La piel sana de diversas regions corporales. *Revista latinoamerica de microbiologia* 25: 365-369.

MARIAT F., ADAMS-CAMPOS C., GENTILINI M. & GLAXOTTE P., 1967 — Presence de dermatophytes chez L'homme en l'absence de lesions cliniques. *Bulletin de la société française de dermatologie et de syphiligraphie* 74: 724-729.

MENZIES J. D., 1957 — A dipper technique for serial dilution of soil for microbial analysis. *Proceedings of the soil science society of America* 21: 660 .

MERCANTINI R., MARSELLA R., LAMBIASE L. & FULVI F., 1983 — Isolation of keratinophilic fungi from floors in Roman primary schools. *Mycopathologia* 82: 115-120.

MERCANTINI R., MARSELLA R., LAMBIASE L. & BELARDI M., 1986 — Isolation of keratinophilic fungi from floors in Roman kindergarten and secondary schools. *Mycopathologia* 94: 109-115.

MOHARRAM A. M., ABDEL-GAWAD K. M. & EL-MARAGHY S. S. M., 1988 — Ecological and physiological studies on fungi associated with human hair. *Folia Microbiologica* 33: 363-371.

MOSS E. S. & MCQUOWN A. L., 1969 — *Atlas of Medical Mycology, 3rd ed.* Williams and Wilkins, Baltimore. 366 p.

NIGAM N. & KUSHWAHA R. K. S., 1989 — Some reports on keratinophilic fungi. *Current Science* 58: 1374.

PITT J. I., 1979 — *The genus penicillium and its teleomorphic states Eupenicillium and Talaromyces*. Academic Press, London. 634 p.

PITT J. I., 1985. *A laboratory guide to common Penicillium species.* Commonwealth scientific and industrial research organization division of food research . 184 p.

POLONELLI L., GARCOVICH A. & MORACE G., 1982 — Dermatophytes carriers among school children. *Mykosen* 25: 254-257.

RAMIREZ C., 1982 — *Manual and atlas of penicilla.* New York, Elsevier Biomedical Press. 847 p.

RAPER K. B. & FENNELL D. J., 1965 — *The genus Aspergillus.* Williams and Wilkins Baltimore, U.S.A. 686 p.

RODHE B. & HARTMANN G., 1980 — *Introducing mycology by examples.* Presented by Schenng Ahtiencesellschaft. P.136 .

ROIG A. M., BONASTRE M., GARCIA PEREZ A. & TORRES RODRIGUEZ J. M., 1989 — Healthy carriers of dermatophytes among children population. *Revista ibérica de Micologia*, 5: 118.

SHEARER C. A. & WEBSTER J., 1985 — Aquatic hyphomycetes communities in the river Teign. III-Comparison of sampling techniques. *Transaction of the british mycological society*, 84: 509-518.

SINSKI J. T. & KELLEY L. M., 1991 — A survey of dermatophytes from human patients in the United States from 1985 to 1987. *Mycopathologia* 114: 117-126.

VAN OORCSHOT C. A. L., 1980 — A revision of *Chrysosporium* and allied genera. *Studies in mycology* 20: 1-87 .

ZAROR L. & ALIAGA X., 1990 — Dermatophytes in healthy chilians. *Mycoses* 33: 95-98.

EFFECTS OF SOME FUNGICIDES ON GERMINATION, GROWTH AND SPORULATION OF *CURVULARIA CYMBOPOGONIS*.

D.B. OLUFOLAJI

Federal University of Technology,
Akure. Nigeria.

ABSTRACT. — Studies were carried out to investigate the efficiency of four fungicides: — Aretan 6 (organomecurial), Benlate (Benlate), Dithane M-45 (Mancozeb) and Tilt (propiconazole), against a strain of *Curvularia cymbopogonis*, causal organism of a leaf spot disease of sugar cane. *In vitro* tests showed these fungicides were toxic to the pathogen at various concentrations and at different developmental stages. Aretan 6 allowed minimum germination only at 1g/l concentration. Tilt and Benlate were also effective at the germination stage since up till 36h after inoculation in 5g/l of the fungicides they prevented germination better than Dithane-M45 which thus proves to be less effective. Aretan inhibited mycelial growth at even lower concentration, while Benlate and Tilt inhibited mycelial growth and sporulation correspondingly at higher concentration: 3-5g/l. However, Dithane-M45 showed no fungicidal or fungistatic activity at the tested concentrations. Finally at 5g/l, Benlate and Tilt, totally inhibited mycelial growth and spore formation in *C. cymbopogonis*.

RÉSUMÉ. — Des études, concernant l'efficacité de quatre fongicides (Aretan 6, Benlate, Dithane-M45 et Tilt) sur le développement du *Curvularia cymbopogonis*, champignon responsable du " leaf spot " de la canne a sucre, ont été entreprises. Les études *in vitro* montrent que ces quatre fongicides sont toxiques pour le *Curvularia cymbopogonis* à des concentrations différentes et à des stades distincts du développement du champignon. A la concentration de 1g/l, l'Aretan 6 présente l'inhibition de germination la plus élevée. Le Tilt et le Benlate sont actifs au stade de la germination jusqu'à 36 heures après l'inoculation à la concentration de 5g/l. Le Dithane-M45 est nettement moins actif. L'Aretan inhibe la croissance à la concentration de 2g/l. Le Benlate et le Tilt nécessitent quant à eux des concentrations plus élevées. Le Dithane-45 n'est pas actif en tant que fongicide. A la concentration de 5g/l, le Benlate et le Tilt arrêtent la croissance et la sporulation de *C. cymbopogonis*.

KEY-WORDS : *Curcularia cymbopogonis*, fungicide, Sugar Cane, Leaf Spot, Germination, growth.

MOTS-CLÉS : *Curvularia cymbopogonis*, fongicides, canne à sucre, germination, croissance.

INTRODUCTION

Some of the common diseases of sugarcane are smut disease caused by *Ustilago scitaminea* Sydow and *Physalospora tucumanensis* Speg. (Antoine, 1961). Parris (1950) also reported eye spot (leaf spot) disease of sugarcane caused by *Helminthosporium sacchari* Butler. In 1986, Olufolaji found *Curvularia cymbopogonis* (C.W. Dodges) Grooves & Skolko to be the causal organism of a new leaf spot disease of sugarcane in Nigeria. This disease was called "Curvularia leaf spot". It is nowadays assuming prominence in Nigerian sugarcane farms and accordingly control measures are needed before it gains economic importance.

In Nigeria several trials have been carried out to control diseases of sugarcane with fungicides (Olufolaji & Olofinboba, 1984; Olufolaji, 1985). These fungicides, are methoxy-ethyl-mercuric chloride 6% Hg (Aretan), triadimefon 25% (Bayleton) and Benomyl 50% (Benlate) which are diverted to control smut and red-rot disease (Olufolaji, 1985).

In Nigeria also, zineb and related fungicides have been tried in controlling "Curvularia leaf spot" disease of maize caused by *C.pallescens* Boed. (Fajemisin & Oyekan,1976). However, there is ■ need to try some of the available fungicides in controlling the new "Curvularia leaf spot" disease of sugarcane in this country.

MATERIALS AND METHODS

Fungicides :

Four fungicides: Aretan 6, Benlate, Dithane-M45 and Tilt were used on *Curvularia cymbopogonis*.

Effects of the fungicides and spore germination :

Exactly 0.05ml of a spore suspension of the fungus was dropped at three spots on clean glass slides. Drops were allowed to be fairly air dried, 0.05ml each of the fungicides concentrations of 1, 2, 3, 4 and 5g/l are dropped on each of the air-dried spore suspension.

A humidity chamber was prepared by placing wet filter papers inside a medium sized petri dish and its lids. Glass slides supported by bits of glass rods were placed inside these petri dishes before incubation at 27°C.

After 24h of incubation, slides were observed for spore germination using a compound Olympus Tokyo microscope. With the aid of a tally counter, germinated and ungerminated spores were counted and percentage germination estimated. The above procedure was carried out for all the fungicides at tested concentrations using 4 replicates. For the control, distilled water was used.

Effects of the fungicides on growth and sporulation:

Exactly 0.05, 0.1, 0.15, 0.20, and 0.25g of each fungicide were dissolved in 50ml each of malt extract agar (MEA). Such weights gives concentrations of 1, 2, 3,

4 and 5g/l respectively. About 12.0ml of the agar-fungicide mixture was poured into 4x12cm medium sized sterile petri dish. Using a sterile cork borer, 0.5cm diameter circles were cut from a week old culture of the *C.cymbopogonis* and each placed upside down onto the centre of the agar in the petri dishes. This procedure was carried out for all tested fungicides at all concentration levels. Inoculated media were incubated at 27°C. A control experiment with MEA without fungicide was inoculated as well. All inoculated plates were observed daily up to 10 days and radial growth measured in diameter (mm).

As regards sporulation, spores were harvested from petri dishes at the 10th day after inoculation. Agar fragments of 1cm2 were cut from the culture surface and dropped in a 25ml beaker containing 5ml distilled water. With the aid of carmel's hair brush, spores on the agar mass surface were dislodged into the water. Spore concentration in the spore suspension was counted with the aid of improved Neubauer's Haemocytometer slide.

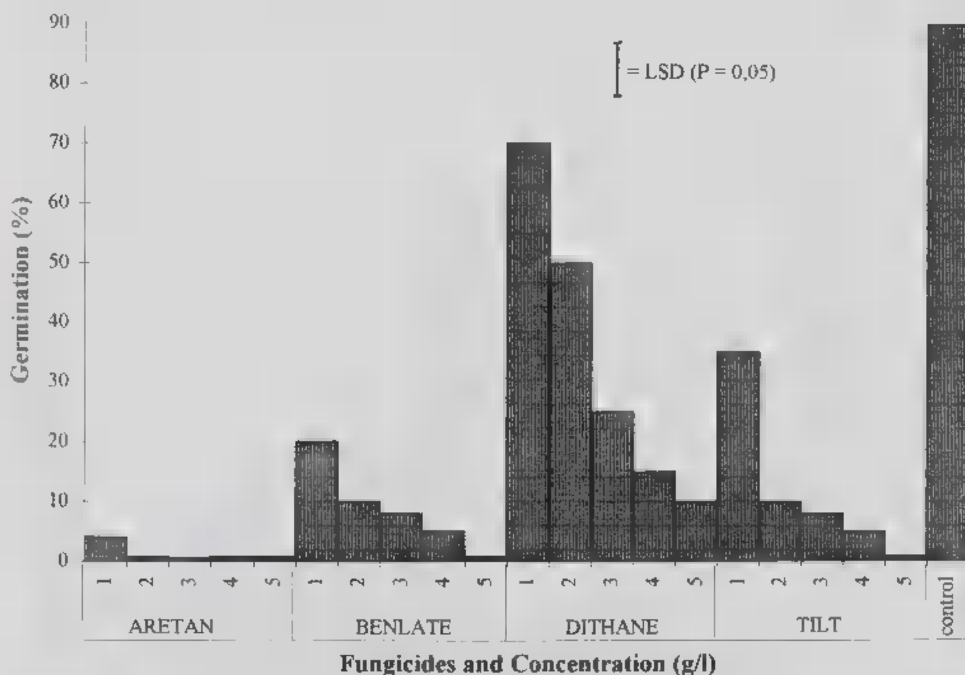


Fig. 1: Germination of spores of *Curvularia cympogonis* on glass slides in differents fungicides concentrations after 36 h of incubation.
Fig. 1: Taux de germination des spores de *Curvularia cympogonis* après 36 h sur lame en présence de différentes concentrations des fongicides étudiés.

RESULTS

Effects of the fungicides [redacted] germination of *C. cymbopogonis*:

Results in fig.1 shows that all tested fungicides were active in inhibiting spore germination in *C.cymbopogonis* at the highest experimental concentrations. Aretan only allowed germination at a concentration of 1g/l. Benlate and Tilt had a similar effect on the fungus by dissallowing germination only at 5g/l concentration. However Dithane-m45 exhibited highest germination percentage (70%) at 1g/l and lowest germination (10%) at 5g/l (fig.1).

Effects of the fungicides on mycelial growth of *C. cymbopogonis*. :

Radial growth measurements for the different fungicides are shown in fig.2. Aretan did not allow mycelial growth except at concentration of 1g/l; radial growth recorded was 4mm. Benlate and Tilt showed no mycelial growth at 5g/l. Tilt allowed corresponding more development up to 4g/l with highest growth of 38,37mm observed at 1g/l and lowest of 12mm at 4g/l. At the latter concentration, Benlate had the same effect. Dithane-M45 allowed highest growth of all the fungicides with a maximum of 82mm, at 1g/l and a minimum of 20mm at 5g/l fungicide concentration.(fig.2)

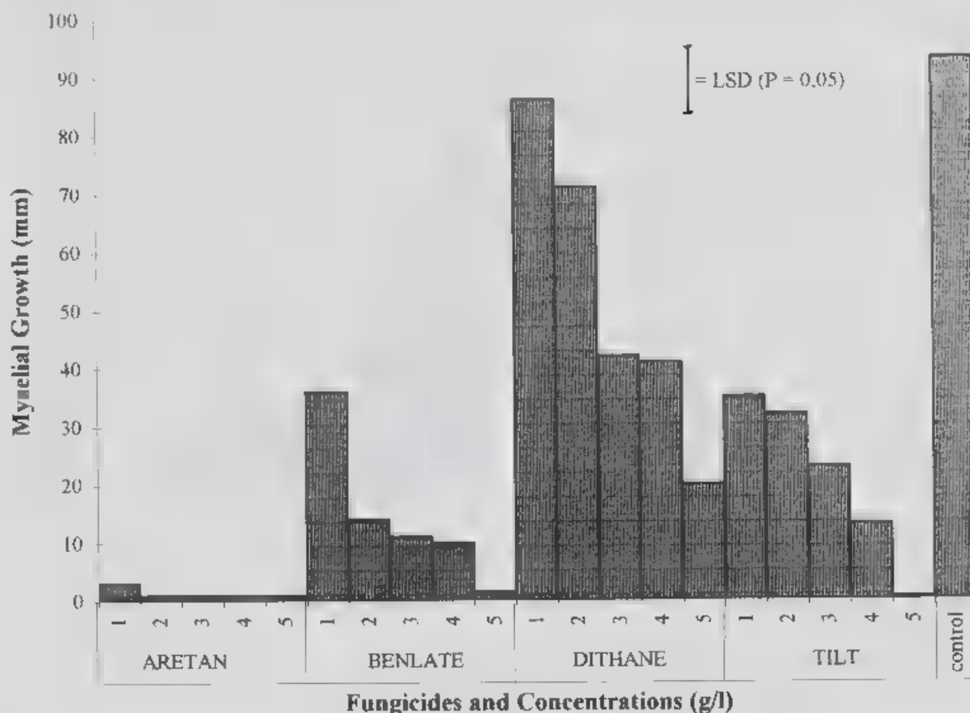


Fig. 2 : The effect of some fungicides at different concentrations on mycelial growth of *Curvularia cymbopogonis*.

Fig. 2 : Croissance de *Curvularia cymbopogonis* en présence de différentes concentrations des fongicides étudiés.

Mycelial growth in the control was profuse and rapid: 90mm growth at the tenth day (fig.2).

Fungicides effects on sporulation of *C. cymbopogonis*:

There was profuse sporulation in the control as opposed to other treatments (Table 1). In all four control replicates an average of 1700 spores were produced. Aretan inhibited sporulation at all tested concentrations. Correspondingly Tilt gave highest record of 98 spores only at 1g/l. Benlate gave 500 spores count at the that same concentration (Table 1), and it allowed sporulation up till the 4g/l fungicide level. Dithane-M45 gave comparatively highest spore count of 1200 spores at 1g/l but this value declined with increasing concentrations to a final count well above corresponding values recorded for other fungicides.

FUNGICIDES	CONCENTRATIONS, g/l	NUMBER OF SPORES PRODUCED
Aretan	1.0	0
	2.0	0
	3.0	0
	4.0	0
	5.0	0
Benlate	1.0	500 ± 70.8
	2.0	320 ± 55.6
	3.0	214 ±36.4
	4.0	126 ± 22.8
	5.0	0 ± 0
Dithane M45	1.0	1200 ±70.8
	2.0	965 ±78.5
	3.0	684 ±54.8
	4.0	566 ± 53.2
	5.0	298 ± 65.8
Tilt	1.0	98 ± 4.3
	2.0	64 ± 3.6
	3.0	55 ± 5.8
	4.0	24 ± 4.3
	5.0	0 ± 0
CONTROL	0.0	1700 ± 120.8

Table 1 : The effect of fungicides at different concentrations on sporulation of *Curvularia cymbopogonis* 10 days after inoculation on potato dextrose agar. Data are means of 4 replicates.
± Standard Error of the mean.
Table 1 : Sporulation de *Curvularia cymboogonis* après 10 jours de culture sur " potato dextrose agar " en présence de différentes concentrations des fongicides étudiés. Les valeurs correspondent à la moyenne de 4 réétitions.
± Écart Moyen.

DISCUSSION

Experimental results show that, Aretan was the most effective in inhibiting spore germination, followed by Tilt, Benlate and lastly Dithane-M45. Olufolaji (1983, 1985) has demonstrated the potency of both Aretan and Benlate in fungal disease control. This is in agreement with results obtained in this study. The mercurial property of Aretan is likely to enhance its highest potency. Dickinson and Wallace (1976) had indicated that a high proportion of the leaf surface mycoflora was susceptible to most fungicides, especially those of wide active spectrum such as Aretan and Benlate. Furthermore the performance of Benlate conformed with previous marks. Benomyl (benlate) wide spectrum of activities against fungi has been already confirmed unlike Zineb and other systemic fungicides and its activities (Waren, 1974). Where some recovery of the microbial populations were observed even after repeated sprays.

Dickinson and wallace (1976) reported that repeated sprays of tridemorph had only minor effects on the phylloplane population of leaf spot pathogens of groundnut when benomyl inhibited the development of many yeasts and filamentous fungi.

With regards to mycelial growth and sporulation, inhibition by Aretan was most effective; it is followed by Tilt, Benlate and lastly Dithane-M45. Growth results obtained in this study, when compared with those of spore germination further confirms that fungicides in general are active at various stages in fungal development, but if applied on time could have a follow up effect. Tilt produced mycelium and no sporulation at the 2g/l concentration and above. It is probable that the active ingridient has caused enough damage in the physiological set-up of the fungus to prevent cell differentiation allowing sporulation.

Since spore formation is the main vehicle of fungal disease dissemination, any fungicide that effectively inhibits sporulation is most promising. In this respect it has earlier been stated that Dithane-M45 allowed sporulation at lower concentration. It is used to control *curvularia* leaf spot disease may thus prove ineffective.

Culbreath *et al* (1993) used Dithane-45 (mancozeb), among other fungicide, in controlling, *Cercosporadium personatum* on *Arachis hypogea* and achieve some degree of success. The fact that our observation do not conform with earlier observation may be due to difference in pathogen characteristics.

REFERENCES

ANTOINE R, 1961 — *in* : *Sugarcane diseases of the world*. Martins. J.P, Abbott E. Vand Hughes. C.S. Ed. Elsevier Publ. Co. Amsterdam, pp 326-354.

CULBREATH A.K., BRENNEMAN T.B., CHANDLER I.D. & SUMMER H.R., 1993 — Chemigation and ground spray applications of cyproconazole for control of late leaf spot of peanut. *Plant Disease*, 77: 505-507.

DICKINSON C.H. & WALLACE B., 1976 — Effects of late application of foliar fungicides on activity of micro organism on winter wheat flag leaves. *Transaction of the British mycological society*, 67: 103-112.

FAJEMISIN J.M. & OKUYEMI O., 1976 — Fungicidal control of Curvularia leaf spot disease of maize. *PANS* 64: 12-14.

OLUFOLAJI D.B. & OLOFINBOBA M.O., 1984 — The control of Smut with fungicides in two sugarcane cultivars in Nigeria. *Sugarcane* 5: 12-19.

OLUFOLAJI D.B., 1985 — *Fungicides combination trials for smut control in Nigeria. Sugarcane* 1: 8-11.

OLUFOLAJI D.B., 1986 — *Curvularia* leaf spot disease of sugarcane: A New Disease. *Sugarcane* 2: 8-11.

OLUFOLAJI D.B., 1993 — Evaluation of some relatively new fungicides for smut control in sugarcane. *Crop Protection 1993*, 12(4): 293-295.

PARRIS G.K., 1950 — The *Helminthosporium* that attack sugarcane. *Phytopathology* 40: 90-103.

Source : MNHN, Paris

ANALYSE BIBLIOGRAPHIQUE

BREITENBACH J. & KRÄNZLIN F. Ed., 1995 — Champignons de Suisse — Tome 4. Champignons à lames 2e partie. CH — Lucerne, Edition Mykologia, 371 p., 4 + 465 fig., 465 phot. col., 1 pl. col. ISBN 3-85604-140-0 (édition française de « Pilze der Schweiz » — Band 4. Blätterpilze 2. Teil, publié également en anglais sous le titre « Fungi of Switzerland » — Agarics 2nd part).

Voici donc paru le quatrième volume des Champignons de Suisse, flore illustrée dont la qualité d'édition et la valeur mycologique sont désormais bien connues. Commencée en 1981 avec les Ascomycètes, cette série traitait ensuite (1986) des Hétérobasidiomycètes, Aphyllophorales et Gastéromycètes pour aborder en 1991, non seulement les Boletales mais déjà près de 400 champignons à lames. Le tome 4 poursuit l'étude de ces derniers en présentant 465 autres espèces, réparties dans des genres qui appartiennent aux *Entolomataceae, Pluteaceae, Amanitaceae, Tricholomataceae, Coprinaceae, Bolbitiaceae* et *Strophariaceae*, familles traditionnellement regroupées dans l'ordre des Agaricales.

Agencé exactement comme les précédents, l'ouvrage offre d'abord une vue d'ensemble sur la systématique adoptée, puis expose les méthodes d'observation utilisées, notamment pour des caractères sporaux particuliers. Cette introduction qui apporte toutes les informations nécessaires à la compréhension des textes — abréviations, noms d'auteurs, noms botaniques — est complétée par un glossaire, accompagné de dessins pour préciser certaines définitions, ainsi que par des clés détaillées. Suivant le modèle classique, celles-ci permettent de parvenir à l'identification des espèces grâce à l'examen de leurs caractères tant écologiques que liés à la morphologie, macro — et microscopique, des basidiocarpes. Mais l'originalité réside dans le fait qu'elles sont précédées d'une clé créée spécialement et basée sur un choix des diverses couleurs de sporées existant chez les champignons considérés. On doit donc entreprendre les déterminations à partir d'une magnifique palette codée qui présente les teintes de sporées, avec dégradés, depuis le blanc, les ocres et les bruns plus ou moins rougeâtres, lilas ou verts jusqu'au noir.

Le relevé floristique occupe évidemment la majeure partie du livre qui comporte aussi une abondante bibliographie et les indispensables index en français et en latin. Pour chaque espèce, sont données la description, des annotations et les indications de récoltes en regard des dessins figurant les éléments microscopiques, d'une photographie en couleurs des basidiocarpes dans leur habitat et — caractéristique supplémentaire — d'une languette rectangulaire montrant la teinte de la sporée. Partout, la dénomination latine des espèces est suivie d'un nom français, appellation vernaculaire lorsqu'elle existe ou traduction, parfois adaptée dans le but de faciliter la mémorisation. Ce nom français a généralement été bien choisi mais, dans le cas de l'*Entoloma catalaunicum*, on peut se demander pourquoi ce champignon est qualifié d'Entolome « de Châlon ». En effet, cela semble évoquer Chalon-sur-Saône alors que c'est Châlons-en-Champagne qui, capitale des Gaulois *Catalauni*, s'appelait

Durocatalauni. Or l'espèce décrite par R. Singer (*Ann. Mycol*. 34 : 428, 1936) a été trouvée au Val d'Arán, dans les Pyrénées centrales espagnoles, d'où la référence à la Catalogne, en latin *Catalaunia* (adjectif : *catalaunicus*). Enfin, au sujet de la comestibilité, les Auteurs ont fort judicieusement élargi l'application du symbole signifiant « champignon non comestible » à tous ceux qui sont rares ou de petite taille mais à valeur scientifique.

Cet ouvrage, doté d'une remarquable iconographie qui est d'ailleurs nouvelle pour de nombreuses espèces, s'avère essentiel à tous ceux que les Basidiomycètes intéressent.

J. Perreau

INSTRUCTIONS AUX AUTEURS

Cryptogamie, Algologie, Cryptogamie, Bryologie-Lichénologie et *Cryptogamie, Mycologie* publient des articles originaux ou des articles de synthèse en systématique, biologie et écologie des cryptogames (algues, bryophytes et lichens, champignons, respectivement). Les manuscrits rédigés en français, en anglais, en allemand, en espagnol et en italien, sont pris en considération dans la limite des possibilités de la Rédaction à trouver des lecteurs compétents dans ces langues. Les auteurs n'écrivant pas dans leur langue doivent, avant soumission, faire relire leur texte par une personne dont la langue du manuscrit est la langue maternelle. Il n'y a pas de limite au nombre de pages. La publication d'un article sera facilitée si les auteurs suivent soigneusement les instructions ci-après.
Les articles sont lus et critiqués par des rapporteurs spécialistes des domaines concernés. Ces rapporteurs sont choisis par la rédaction. La publication définitive des articles dépend de la rédaction. Les manuscrits non conformes aux instructions qui suivent sont retournés aux auteurs pour être corrigés, avant leur soumission au Comité de Lecture. Dès leur acceptation, les droits de reproduction des articles deviennent la propriété de la revue.

TEXTE. — Les manuscrits doivent être fournis en triple exemplaire (l'original et deux copies), dactylographiés sur une seule face, en double interligne (y compris les références et les légendes), sans rature ni surcharge, sans mots coupés et avec une marge gauche de 4 cm. Pour raccourcir les délais de parution, il **est vivement recommandé d'envoyer à la rédaction la version finale de l'article enregistrée [redacted] disquette utilisable sous DOS (IBM) ou Macintosh ; le logiciel MS WORD est conseillé.**

Chaque manuscrit, paginé, devra comporter, dans l'ordre :
— une page comportant le titre de l'article et son éventuelle traduction en anglais comprendra les noms, prénoms et adresses des auteurs (y compris, dans la mesure du possible, les numéros de télécopie et de courrier électronique), l'auteur à qui la correspondance doit être adressée devant être précisé ; le titre courant (haut de page) de 50 signes au maximum ; une liste de mots-clés ;
— deux résumés, l'un en français (en cas de nécessité, la rédaction peut aider à sa traduction), l'autre en anglais, chacun d'eux d'environ 180 mots ou 15 lignes (non limitatif) et, éventuellement, un troisième dans la langue de l'article ; ils doivent faire ressortir les résultats essentiels exposés dans le texte ;
— le texte proprement dit, suivi des légendes des figures, des planches et des tableaux, dans cet ordre.

La présentation du texte devra faire apparaître clairement les subdivisions appropriées à la nature de l'article (par ex. Introduction, Matériels et Méthodes, Résultats, Discussion, Remerciements, Références), leur hiérarchie, ainsi que le début des paragraphes. Les symboles, unités et la nomenclature doivent suivre les normes internationales : le système SI, en particulier, doit être utilisé. La première mention du nom latin d'une espèce doit être accompagnée des noms des autorités taxinomiques. Un fascicule du journal pourra être consulté à titre d'exemple pour une plus ample information sur les conventions suivies par la revue. Les légendes des figures et des tableaux (dans la langue du manuscrit et en anglais) doivent être explicites.

RÉFÉRENCES. — La liste bibliographique devra se faire par ordre alphabétique des auteurs et chronologique par auteurs sans tenir compte des auteurs secondaires. Les titres des périodiques devront être cités en entier ; les ouvrages seront cités selon F.A. Stafleu & R.S. Cowan, 1976..., *Taxonomic literature*. Ed. 2. Utrecht/Antwerpen : Bohn, Scheltema & Holkema. Les références devront être présentées selon les modèles suivants (noter que les noms des auteurs Chinois sont écrits en entier et dans le style du changement national effectué en Chine en 1987 ; par ex. Chang C.F. devient Zhang Jungfu) :

AJISAKA T., NORO T., TRONO Jr. G.C., YOUNG-MENG CHIANG & YOSHIDA T., 1994 — Several *Sargassum* species (subgenus *Sargassum*) in East Asia with furcately branching leaves. *In*: Abbott I.A. (ed.), *Taxonomy of Economic Seaweeds*. IV. La Jolla, California Sea Grant College, University of California, pp. 9-22.

ALBRECHT A. & REISE K., 1994 — Effects of *Fucus vesiculosus* covering intertidal mussel beds in the Wadden Sea. *Helgoländer Meeresuntersuchungen* 48 (2-3): 243-256.

MAGGS C.A. & HOMMERSAND M.H., 1993 — *Seaweeds of the British Isles*. 1 Rhodophyta. Part 3A Ceramiales. London, HMSO Books, The Natural History Museum, 464 p.

MONTAGNE C., 1838 — Centurie des plantes cellulaires exotiques nouvelles. *Annales des Sciences Naturelles, Botanique*, sér. 2, 9: 38-57.

Les renvois à la liste bibliographique se feront par le nom de l'auteur et l'année de publication ; utiliser "*et al.*" lorsque l'article est signé par plus de deux auteurs et "&" entre deux auteurs (par ex. Montagne, 1838 ; Maggs & Hommersand, 1993 ; Ajisaka *et al.*, 1994).

ILLUSTRATIONS. — Toutes les illustrations doivent être montées sur papier blanc rigide ; les noms des auteurs et le numéro des figures doivent être indiqués au verso de chacune d'elles. Toutes les illustrations au trait doivent être originales, à l'encre de Chine, les numéros et les lettres doivent être effectués à l'aide de lettres de transfert. Les dimensions des originaux ne devront pas excéder le triple de celle de leur reproduction définitive (justification de la revue : 12,5 × 18 cm). Les illustrations au trait et les tableaux, doivent être des originaux de qualité suffisante pour la reproduction directe en offset. Les auteurs choisiront l'épaisseur des traits et la taille des caractères en fonction de la réduction éventuelle des illustrations. Les illustrations photographiques doivent être fournies en trois exemplaires originaux (ou un original et deux photocopies laser). Les documents photographiques doivent être montés par planches, à la taille de leur reproduction finale (justification maximale : 12,5 × 18 cm). Toutes les figures devront comporter les échelles (les grandissements x... sont prohibés), les symboles nécessaires à leur compréhension, et être numérotées dans l'ordre d'appel dans le texte. La publication de planches en couleurs est à la charge des auteurs.

ÉPREUVES. — Les épreuves devront être vérifiées et retournées à la rédaction dans les 48 heures suivant leur réception, par courrier et, si nécessaire, par fax. A ce stade, les possibilités de correction sont limitées aux fautes de frappe. Si des modifications aux illustrations s'avéraient nécessaires, le coût du clichage des nouveaux originaux serait à la charge des auteurs. Si les épreuves ne sont pas retournées dans les délais, l'article paraîtra sans les corrections des auteurs.

TIRÉS-À-PART : limités à 150, dont 25 gratuits. Un bon de commande pour les tirés-à-part est joint à l'envoi des épreuves.

Cryptogamie
Association des Amis des Cryptogames (ADAC), Muséum National d'Histoire Naturelle, Laboratoire de Cryptogamie (PC), 12, rue Buffon 75005 Paris France

Directeur de publication : Hélène Causse-Bischler

Cryptogamie, ***Algologie*** - Rédacteur : Bruno de Reviers
Tél. (33) 1 40 79 31 98 - Fax (33) 1 40 79 35 94 - E-mail reviers@mnhn.fr

Cryptogamie, ***Bryologie-Lichénologie*** - Rédacteur : Denis Lamy
Tél. (33) 1 40 79 31 84 - Fax (33) 1 40 79 35 94 - E-mail lamy@mnhn.fr

Cryptogamie, ***Mycologie*** - Rédacteur : Bruno Dennetière
Tél. (33) 1 40 79 31 87 - Fax (33) 1 40 79 35 94 - E-mail cryplich@mnhn.fr

INSTRUCTIONS TO AUTHORS

Cryptogamie, Algologie; *Cryptogamie, Bryologie-Lichénologie*; and *Cryptogamie, Mycologie* publish original papers, and reviews, on the systematics, biology and ecology of cryptogams (algae; bryophytes and lichens; and fungi, respectively). Manuscripts written in French, English, German, Italian and Spanish are considered providing suitable referees fluent in the language of the manuscript are available. Authors not writing in their first language should have manuscripts checked for grammar and syntax by a suitable person before submission. There are no page limits for papers. Publication will be facilitated if authors check carefully that the manuscript and illustrations meet the requirements outlined below.

Papers are reviewed by referees in whose field the paper lies. The choice of reviewers is at the discretion of the Editor. Final responsibility for the publication of papers rests with the Editor. Manuscripts that do not conform to instructions which follow will be returned for correction prior to review. On acceptance, papers become the copyright of the journal.

TEXT. — Manuscripts should be submitted to the Editor in triplicate, including the original copy. All parts of the manuscript must be typed double-spaced (including references and legends), on one side of the paper, with left margin of 4 cm. To minimize delays in publication, **authors should send the final version of their manuscripts on floppy disks (5 1/4, 3 1/2) using the DOS (IBM) or Macintosh format. In addition, the use of MS WORD would be appreciated.**

Each manuscript should include, in order:

– A title page containing the title of the paper and, if necessary, its English translation; the complete name and address of each author (including, as much as possible, fax number and e-mail address), and author to whom correspondence should be sent; a running title of less than 50 letters, and a list of key words;

– Two abstracts, the first in French (if necessary, some help can be provided by the Editorial Office), the second in English (a third one in the language of the text is accepted), each of no more than 180 words or 15 lines, summarizing the major results of the paper;

– The main text, followed by references, legends for figures, and tables, in that order.

The text should normally be divided into sections (e.g. Introduction, Materials and Methods, Results, Discussion, Acknowledgements, References) appropriate to the nature of the paper. Indent the first line of all paragraphs. Symbols, units and nomenclature should conform to international usage. The SI system should be used throughout. The first mention of the Latin name of a species in the text should be accompanied by the nomenclatural authorities. Consult the current issue of the Journal for style of headings, sub-headings and other conventions. Legends for figures, plates and tables should be self-explanatory, and written in the language of the text and in English if it is not the language used for the text.

REFERENCES. — References should be arranged alphabetically and then chronologically by author. Journals titles should be cited in full; and books, cited according to F.A. Stafleu & R.S. Cowan, 1976..., *Taxonomic literature*. Ed. 2. Utrecht/Antwerpen: Bohn, Scheltema & Holkema. Conventions of style are provided in the following examples (note that names of Chinese authors are written in full and listed in the style in accordance with the national change made in China in 1987; e.g. Chang C.F. becomes Zhang Junfu):

AJISAKA T., NORO T., TRONO Jr. G.C., YOUNG-MENG CHIANG & YOSHIDA T., 1994 — Several *Sargassum* species (subgenus *Sargassum*) in East Asia with furcately branching leaves. *In*: Abbott I.A. (ed.), *Taxonomy of Economic Seaweeds*. IV. La Jolla, California Sea Grant College, University of California, pp. 9-22.

ALBRECHT A. & REISE K., 1994 — Effects of *Fucus vesiculosus* covering intertidal mussel beds in the Wadden Sea. *Helgoländer Meeresuntersuchungen* 48 (2-3): 243-256.

MAGGS C.A. & HOMMERSAND M.H., 1993 — *Seaweeds of the British Isles.* 1 Rhodophyta. Part 3A Ceramiales. London, HMSO Books, The Natural History Museum, 464 p.

MONTAGNE C., 1838 — Centurie des plantes cellulaires exotiques nouvelles. *Annales des Sciences Naturelles, Botanique,* sér. 2, 9: 38-57.

In the text, references should be cited by the name of the author and the year of publication; use "*et al.*", for more than two authors, and use "&" between two authors (e.g. Montagne, 1838; Maggs & Hommersand, 1993; Ajisaka *et al.*, 1994).

ILLUSTRATIONS. — All illustrations should be mounted on white light-weight carbocard, with author's names and figure numbers on the verso. Each line drawing should be original, clearly drawn with black India ink, and of good quality; letters and numerals must be made with a lettering device (not with a type writer). Originals should not be more than three times the size of the final reduction (12.5 × 18 cm). Both drawings and tables should be ready for direct reproduction by offset. Authors should choose very carefully the thickness of lines, and character sizes, corresponding to final reduction. . Three copies of all photographic illustrations (or an original and to laser photocopies) are required. Photographic figures should be ready for same-size reproduction: maximum page size is 12.5 × 18 cm. All figures should include scale bars and symbols necessary for their understanding, and they should be numbered consecutively, according to the order cited in the text. Color plates will be published only at the authors expense.

PROOFS. — Proofs should be checked and returned by airmail (if necessary, by fax) to the Editor within 48 hours of receipt. At this stage, corrections should be restricted to those arising from typesetting errors. If changes to illustrations are necessary at proof stage, new originals would have to be supplied and the cost for re-photographing will be charged to author at the discretion of the Editor. If proofs are not returned promptly, the article will be published without the author's corrections.

REPRINTS: not more than 150, of which 25 are free copies. Reprint orders are enclosed with proofs.

Cryptogamie
Association des Amis des Cryptogames (ADAC), Muséum National d'Histoire Naturelle, Laboratoire de Cryptogamie (PC), 12, rue Buffon 75005 Paris France

Director of the journal: Hélène Causse-Bischler

*Cryptogamie, **Algologie*** - Editor: Bruno de Reviers
Tél. (33) 1 40 79 31 98 - Fax (33) 1 40 79 35 94 - E-mail reviers@mnhn.fr

*Cryptogamie, **Bryologie-Lichénologie*** - Editor: Denis Lamy
Tél. (33) 1 40 79 31 84 - Fax (33) 1 40 79 35 94 - E-mail lamy@mnhn.fr

*Cryptogamie, **Mycologie*** - Editor: Bruno Dennetière
Tél. (33) 1 40 79 31 87 - Fax (33) 1 40 79 35 94 - E-mail cryplich@mnhn.fr

Commission paritaire 16-1-1986 - N° 58611 - Dépôt légal 2[e] trimestre 1996 - Imprimerie F. Paillart
Sortie des presses le 30 avril 1996 - Imprimé en France
Éditeur : A.D.A.C. (Association des Amis des Cryptogames)
Président : D. Lamy ; Secrétaire : B. Dennetière
Trésorier : E. Bury ; Directeur de la publication : H. Causse

Société Française de Systématique 

La Société Française de Systématique réunit les systématiciens ou les personnes intéressées par la Systématique et les informe en publiant un *Bulletin*. Elle convie ses membres à des colloques annuels transdisciplinaires, au cours desquels les systématiciens et d'autres scientifiques peuvent s'exprimer et débattre.

Cotisation annuelle: 100F

Demande d'adhésion à adresser au:
Secrétariat de la Société Française de Systématique, 45 rue Buffon, F-75005 Paris.
CCP 7-367-80 D PARIS

***La Société édite aussi la série* Biosystema.**
Prix TTC du Biosystema (France, Etranger): 150 FF, membre SFS : 100 FF.

Biosystema 1 - Introduction à la systématique zoologique - (Concepts. Principes, Méthodes) par L. Matile, P. Tassy & D. Goujet. 1987.
Biosystema 2 - Systématique Cladistique - Quelques textes fondamentaux. Glossaire. Traduction et adaptation de D. Goujet, L. Matile, P. Janvier & J.P. Hugot. 1988
Biosystema 3 - La systématique et l'évolution de Lamarck aux théoriciens modernes, par S. Løvtrup. 1988.
Biosystema 4 - L'analyse cladistique: problème et solutions heuristiques informatisées, par M. d'Udekem-Gevers. 1990.
Biosystema 5 - Les introuvables de J.B. Lamarck- Discours d'ouverture du cours de zoologie et articles du Dictionnaire d'Histoire naturelle. Edition préparée par D. Goujet. 1990.
Biosystema 6 - Systématique et Ecologie, par R. Barbault, Cl. Combes, F. Renaud, N. Le Brun & A. Dubois. Edition coordonnée par J.P. Hugot. 1991.
Biosystema 7 - Systématique et Biogéographie Historique. Textes historiques et méthodologiques. Traduction et adaptation de P. Janvier, L. Matile & Th. Bourgoin. 1991.
Biosystema 8 - Systématique et Société. Edition coordonnée par G. Pasteur. 1993.
Biosystema 9 - Les Monocotylédones, par J. Mathez. 1993.
Biosystema 10 - Systématique botanique : problèmes actuels. Edition coordonnée par O. Poncy. 1993.
Biosystema 11 - Systématique et Phylogénie: modèles d'évolution biologique. Edition coordonnée par P. Tassy et H. Lelièvre. 1994.
Biosystema 12 - Phylsyst: logiciel de reconstruction phylogénétique, par I. Bichindaritz, S. Potter & B. Sigwalt †. 1994.
Biosystema 13 - Systématique et Biodiversité. Edition coordonnée par Th. Bourgoin. 1995.
Biosystema 14 - Systématique et Informatique. Edition coordonnée par J. Lebbe, en préparation.

Le Conseil de la SFS, XII.1995

SOMMAIRE

Cryptogamie, Mycol. 1996, 17 (1) : 1-60